

**UJI TOKSISITAS AKUT DAN SUBKRONIS DARI EKSTRAK PEGAGAN
(*Centella asiatica Linn*) PADA TIKUS**

Laporan Tugas Akhir

**Syahrul Umam
11161114**



**Universitas Bhakti Kencana
Fakultas Farmasi
Program Strata I Farmasi
Bandung
2020**

LEMBAR PENGESAHAN

UJI TOKSISITAS AKUT DAN SUBKRONIS DARI EKSTRAK PEGAGAN

(*Centella asiatica Linn*) PADA TIKUS

Laporan Tugas Akhir

Diajukan untuk memenuhi syarat kelulusan Program Strata I Farmasi

Syahrul Umam

11161114

Bandung, Agustus 2020

Menyetujui,

Pembimbing Utama,



(Dr. apt. Yani Mulyani, M.Si)

Pembimbing Serta,



(Dr. apt. Patonah, M.Si)

*Dipersembahkan kepada orang tua, keluarga, saudara dan sahabat-sahabat yang
terkasih...*

PEDOMAN PENGGUNAAN SKRIPSI

Skripsi yang tidak dipublikasikan terdaftar dan tersedia di Perpustakaan Universitas Bhakti Kencana dan terbuka untuk umum.

Referensi kepustakaan diperkenankan dicatat, tetapi pengutipan atau peringkasan hanya dapat dilakukan seizin pengarang dan harus disertai dengan kebiasaan ilmiah untuk menyebutkan sumbernya.

Memperbanyak atau menerbitkan sebagian atau seluruh skripsi haruslah seizin Ketua Program Studi Farmasi di lingkungan Universitas Bhakti Kencana.

ABSTRAK

UJI TOKSISITAS AKUT DAN SUBKRONIS DARI EKSTRAK PEGAGAN (*Centella asiatica* Linn) PADA TIKUS

Oleh :

Syahrul Umam

11161114

Latar Belakang dan Tujuan : Pegagan (*Centella asiatica*) merupakan salah satu tanaman yang telah digunakan secara empiris oleh masyarakat Indonesia untuk mengobati berbagai penyakit. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui keamanan dari tanaman pegagan dengan uji toksisitas akut dan sub kronis, melalui pengamatan gejala ketoksikan, nilai LD50 kadar Kreatinin, Blood Ureum Nitrogen, SGOT, SGPT serta profil hematologi. **Bahan dan Metode :** Penelitian ini dilakukan menggunakan tikus Wistar dengan pengujian toksisitas akut dan sub kronis. Pada uji toksisitas akut di berikan sediaan ekstrak *Centella asiatica* sekali pemberian dengan dosis 300, 2000 dan 5000 mg/kg diamati selama 14 hari. Sedangkan untuk Penelitian uji toksisitas sub kronis di berikan ekstrak *Centella asiatica* secara berulang dengan dosis bertingkat yaitu 50, 100 dan 200 mg/kg selama 28 hari. **Hasil :** Pemberian ekstrak *Centella asiatica* pada uji toksisitas akut diperoleh nilai LD50 lebih dari 5000 mg/kgbb. Pada uji toksisitas sub kronis pemberian ekstrak *Centella asiatica* dosis 50, 100 dan 200 mg/kg tidak menyebabkan perubahan terhadap kadar biokimia hati dan ginjal ($p>0,05$), Serta tidak menimbulkan perubahan terhadap profil hematologi ($p>0,05$). **Kesimpulan :** Pemberian ekstrak pegagan uji toksisitas akut dan sub kronis tidak menyebabkan ketoksikan pada tikus Wistar.

Kata kunci : *Centella asiatica*, Obat Tradisional, Toksisitas Akut, Toksisitas Sub Kronis

ABSTRACT

ACUTE AND SUB-CHRONIC TOXICITY TEST FROM PEGAGAN (*Centella asiatica* Linn) EXTRACT IN RATS

By :

Syahrul Umam

11161114

Background and Purpose : Pegagan (*Centella asiatica*) is a plant that has been used empirically by Indonesian people to treat various diseases. This study aimed to determine the safety of pegagan leaves with acute and sub-chronic toxicity tests, through observations of toxicological symptoms, LD50 values, Creatinine levels, Blood Ureum Nitrogen, SGOT, SGPT and Hematological profiles. **Materials and Methods :** This study was carried out using Wistar rats with acute and sub-chronic toxicity testing. In the acute toxicity test, *Centella asiatica* extract is given once a dose of 300, 2000 and 5000 mg/kg is observed for 14 days. Whereas for the study of sub chronic toxicity test was given *Centella asiatica* extract repeatedly with multilevel doses of 50, 100 and 200 mg/kg for 28 days. **Results :** Administration of *Centella asiatica* extract in acute toxicity test obtained LD50 values of more than 5000 mg/kg. In the sub-chronic toxicity test, *Centella asiatica* extracts with doses of 50, 100 and 200 mg/kg did not cause changes in the biochemical levels of the liver and kidneys ($p>0.05$), and did not cause changes in the hematological profile ($p>0.05$). **Conclusion :** The administration of pegagan extract acute and sub-chronic toxicity tests did not cause toxicity in Wistar rats.

Keywords : *Centella asiatica*, Traditional Medicine, Acute Toxicity, Sub-Chronic Toxicity

KATA PENGANTAR

Assalamu'alaikum wr wb

Puji syukur penulis panjatkan kehadiran Allah SWT atas segala rahmat dan hidayahNya, serta sholawat dan salam semoga tak lupa untuk selalu tercurahkan kepada Baginda Rasulullah SAW. Alhamdulillah, berkat pertolongan-Nyalah penulis dapat menyelesaikan laporan tugas akhir yang berjudul “UJI TOKSISITAS AKUT DAN SUBKRONIS DARI EKSTRAK PEGAGAN (*Centella asiatica Linn*) PADA TIKUS” sebagai salah satu syarat untuk mengikuti sidang Tugas Akhir II.

Penulis menyadari selama proses penelitian hingga penyelesaian laporan tugas akhir, tidak terlepas dari bantuan dan dukungan dari berbagai pihak, oleh karena itu penulis ingin mengucapkan terima kasih kepada :

1. Orang tuaku tercinta Bapak Moch Umam Muslich, Ibu Mudatul Magfiroh, adikku Affan Al Malikie Umam dan keluarga besar yang turut memberikan motivasi, doa-doa dan nasihat, serta dukungan moril maupun materil.
2. Bapak Dr. Apt. Entris Sutrisno, S.Farm., MH.Kes sebagai Rektor Universitas Bhakti Kencana.
3. Ibu Dr. Apt. Yani Mulyani, M.Si sebagai pembimbing utama yang telah memberikan ilmu, arahan, waktu, serta keikhlasannya dalam menyelesaikan laporan tugas akhir ini.
4. Ibu Dr. Apt. Patonah, M.Si sebagai pembimbing serta yang telah memberikan bimbingan serta berbagai masukan.
5. Ibu Bapak Dosen lainnya, yang telah berkenan berdiskusi dengan penulis dan memberikan berbagai masukan terkait penelitian.
6. Segenap karyawan dan staf laboratorium Fakultas Farmasi Unversitas Bhakti Kencana yang telah banyak membantu demi kelancaran penelitian.
7. Teman-teman tim belajar (Ersa Nurfarisi, Irma Yulianti, Cecep Sutiyono, M Fatan Antafani, Muads Al Anshari dan teman-teman tim belajar lainnya), yang telah menjadi teman belajar dan berbagi suka duka.
8. Midzi Nur Oktavani yang telah memberikan semangat dan dukungannya dalam penyelesain tugas akhir ini.
9. Semua teman-teman GRAMASI angkatan 2016.

10. Semua pihak yang telah membantu dalam penyusunan skripsi ini yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu.

Do'a serta harapan penulis, semoga laporan tugas akhir ini bermanfaat untuk pengembangan penelitian selanjutnya, dan lebih luas lagi untuk masyarakat. Penulis menyadari masih banyak kekurangan dalam laporan tugas akhir ini, untuk itu kritik dan saran dari pembaca yang bersifat membangun sangat penulis harapkan untuk memperbaiki kekurangan dalam laporan tugas akhir ini.

Bandung, Agustus 2020

Penulis

DAFTAR ISI

ABSTRAK.....	i
ABSTRACT.....	ii
KATA PENGANTAR.....	iii
DAFTAR ISI.....	v
DAFTAR TABEL.....	vii
DAFTAR GAMBAR.....	viii
DAFTAR LAMPIRAN.....	ix
DAFTAR SINGKATAN DAN LAMBANG.....	x
BAB I. PENDAHULUAN.....	1
I.1. Latar Belakang.....	1
I.2. Rumusan Masalah.....	2
I.3. Tujuan Penelitian.....	3
I.4. Manfaat Penelitian.....	3
I.5. Hipotesis.....	3
I.6. Waktu dan Tempat Penelitian.....	3
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA.....	4
II.1 Monografi tumbuhan pegagan (<i>Centella asiatica (L.) Urban</i>).....	4
II.2 Toksisitas.....	6
II.3 Uji Toksisitas.....	7
II.4 Uji Toksisitas Akut.....	7
II.5 Uji toksisitas sub kronis.....	8
II.6 <i>Lethal dose 50 (LD₅₀)</i>	8
II.7 Etika Penelitian.....	10
BAB III. METODOLOGI PENELITIAN.....	13
III.1 Uji Toksisitas Akut.....	13
III.2 Uji Toksisitas Subkronik.....	13
BAB IV. PROSEDUR PENELITIAN.....	15
IV.1. Metode Pengujian toksisitas Akut.....	15
IV.1.1. Penyiapan Hewan Uji.....	15
IV.1.2. Pembuatan Suspensi Na-CMC 0,5%.....	15
IV.1.3. Pembuatan Larutan Uji.....	15
IV.1.4. Metode Pengujian.....	15
IV.1.5. Uji Pendahuluan.....	15
IV.1.6. Uji Utama.....	16

IV.1.7. Analisis Data	16
IV.2. Uji Toksisitas Subkronis	16
IV.2.1. Penyiapan Hewan Uji	16
IV.2.2. Dosis Uji	16
IV.2.3. Penyiapan Sediaan Uji	16
IV.2.4. Cara Pemberian Dan Volume Pemberian	17
IV.2.5. Waktu Pemberian Sediaan	17
IV.2.6. Pengamatan	17
IV.2.7. Monitoring Berat Badan Dan Konsumsi Makanan	17
IV.2.8. Pengambilan Darah	17
IV.2.9. Pemeriksaan Organ	18
BAB V. HASIL DAN PEMBAHASAN	19
V.1. Hasil Penelitian Tanaman Pegagan	19
V.1.1. Determinasi Tanaman	19
V.1.2. Skrining Fitokimia	19
V.1.3. Karakterisasi Tanaman Pegagan	20
V.2. Uji Toksisitas Akut Ekstrak Pegagan	21
V.2.1. Hasil Monitoring Berat Badan Tikus	21
V.2.2. Pengamatan Gejala Ketoksikan	22
V.2.3. Indeks Organ	23
V.2.4. Hasil LD ₅₀	24
V.2.5. Efek Pegagan Terhadap Fungsi Organ	25
V.3. Uji Toksisitas Sub-kronis Ekstrak Pegagan	28
V.3.1. Monitoring Berat Badan Tikus	28
V.3.2. Hasil Rata – Rata Indeks Organ	30
V.3.3. Pemeriksaan Biokimia	31
V.3.4. Pemeriksaan Hematologi	34
BAB VI. SIMPULAN DAN SARAN	39
VI.1. Kesimpulan	39
VI.2. Saran	39
DAFTAR PUSTAKA	40
LAMPIRAN	44

DAFTAR TABEL

Tabel V. 1 Hasil Skining Fitokimia	19
Tabel V. 2 Hasil Karakterisasi Tanaman Pegagan	20
Tabel V. 3 Rata – rata hasil monitoring berat badan tikus dengan pemberian ekstrak pegagan selama 14 hari	22
Tabel V. 4 Hasil pengamatan gejala ketoksikan setelah pemberian ekstrak pegagan dosis 5000mg/kgbb	22
Tabel V. 5 Hasil pengamtan indeks organ tikus pada hari ke- 14 setelah pemberian ekstrak pegagan dosis 5000 mg/kgbb.	23
Tabel V. 6 Hasil LD50 dari pemberian ekstrak pegagan selama 14 hari	24
Tabel V. 7 Rata – rata kadar SGOT dan SGPT tikus uji toksisitas akut.....	26
Tabel V. 8 Rata – rata kadar kreatinin dan BUN tikus Uji Toksisitas Akut	28
Tabel V. 9 Rata – Rata Berat Badan Tikus Jantan Dengan Pemberian Ekstrak Pegagan Selama 28 Hari.....	29
Tabel V. 10 Rata – Rata Berat Badan Tikus Betina Dengan Pemberian Ekstrak Pegagan Selama 28 Hari.....	29
Tabel V. 11 Hasil Rata – Rata Indeks Organ Tikus Jantan Setelah Pemberian Ekstrak Pegagan Dosis Bertingkat Selama 28 Hari.....	30
Tabel V. 12 Hasil Rata – Rata Indeks Organ Tikus Betina Setelah Pemberian Ekstrak Pegagan Dosis Bertingkat Selama 28 Hari.....	31
Tabel V. 13 Rata – Rata Kadar SGPT Dan SGOT Uji Toksisitas Sub-Kronis	32
Tabel V. 14 Rata – Rata Kadar Kreatinin Dan Blood Uream Nitrogen Uji Toksisitas Sub-Kronis.....	33
Tabel V. 15 Hasil Pemeriksaan Hematologi Tikus Sub-Kronis.....	34

DAFTAR GAMBAR

Gambar II. 1 Tanaman Pegagan	5
Gambar II. 2 Kandungan triterpenoid C. Asiatica	6

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1 Kode Etik Penelitian.....	44
Lampiran 2 Surat Determinasi.....	45
Lampiran 3 Hasil Skrining Fitokimia	46
Lampiran 4 Foto Hewan Uji.....	47
Lampiran 5 Berat Badan Tikus Uji Toksisitas Akut.....	49
Lampiran 6 Perhitungan Indeks Organ Uji Toksisitas Akut	50
Lampiran 7 Pemeriksaan Biokimia Uji Toksisitas Akut.....	51
Lampiran 8 Berat Badan Tikus Uji Toksisitas Sub Kronis	52
Lampiran 9 Hasil Pemeriksaan Biokimia Uji Toksisitas Sub Kronis.....	53
Lampiran 10 Hasil Indeks Organ Hewan Jantan Uji Toksisitas Sub Kronis	54
Lampiran 11 Hasil Indeks Organ Hewan Betina Uji Toksisitas Sub Kronis	55
Lampiran 12 Hasil Pemeriksaan Hematologi Uji Toksisitas Sub Kronis	56
Lampiran 13 hasil Uji Statistika	57

DAFTAR SINGKATAN DAN LAMBANG

SINGKATAN	MAKNA
AST	Aspartate Aminotransferase
ALT	Alanine Aminotransferase
BUN	Blood Ureum Nitrogen
OECD	Organization for Economic Cooperation and Development
SGOT	Serum Glutamic Oxaloacetic Transaminase
SGPT	Serum Glutamic Pyruvic Transaminase

BAB I. PENDAHULUAN

I.1. Latar Belakang

Obat tradisional telah digunakan secara empiris oleh masyarakat Indonesia untuk pengobatan berbagai penyakit (BPOM, 2005). Penelitian obat tradisional terus berkembang dan meningkat jumlahnya. Namun, hingga saat ini hanya beberapa penelitian saja yang digunakan dalam pengobatan karena harus memenuhi syarat keamanan, manfaat dan terstandarisasi. Penyakit kardiovaskuler adalah penyebab kematian nomor satu penyakit tidak menular setiap tahunnya (Kemenkes RI, 2014).

Penyakit kardiovaskuler adalah penyebab kematian nomor satu penyakit tidak menular setiap tahunnya (Kemenkes RI, 2014). Penyakit ini terjadi karena adanya gangguan pada jantung dan pembuluh darah yang berperan dalam sirkulasi darah. Pembuluh darah arteri memiliki peran dalam mengatur tekanan darah. ketika arteri mengeras tekanan darah akan meningkat. Peningkatan tekanan darah atau disebut hipertensi, dapat terjadi sebagai akibat dari peningkatan cardiac output (CO), peningkatan total resistensi pembuluh darah perifer, atau kombinasi keduanya (Mayet dan Hughes 2003). Hipertensi ditandai dengan kenaikan tekanan darah $\geq 140/90$ mmHg yang dapat menyebabkan komplikasi penyakit kardiovaskular lainnya seperti infark miokard, gagal jantung, stroke, penyakit arteri perifer, dan penyakit ginjal kronis (Baradaran *et al.*, 2014). Salah satu usaha yang dapat dilakukan untuk mengontrol tekanan darah adalah dengan menggunakan obat tradisional sebagai penunjang pengobatan konvensional pada penyakit kardiovaskular yang di sebabkan hipertensi.

Pegagan (*C. asiatica*) adalah tanaman obat tropis dari keluarga Apiaceae, yang penyebarannya tersebar luas di Asia termasuk Indonesia (Cabi, 2019; Nadia *et al.*, 2019). Pegagan memiliki berbagai kandungan senyawa aktif diantaranya triterpenoid yaitu *asiaticoside*, *madecassoside*, *asam asiatic*, dan *asam madecassic* (James and Dubery, 2011) Selain senyawa triterpenoid terdapat pula senyawa flavanoid, glikosida, alkaloid, stereroid, minyak atsiri dan lemak (Subban *et al.*, 2008). Penelitian ilmiah yang dilakukan oleh Hasimun P. (2018) pegagan yang di kombinasikan dengan curcuma longa bekerja secara sinergis sebagai diuretik, mengurangi tekanan darah sistolik dan diastolik serta memperbaiki kekakuan arteri. Selain itu, asam asiatic yang terdapat dalam *Centella asiatica* memiliki

aktivitas memperbaiki sel endotel aorta manusia yang mengalami hiperpermeabilitas karena TNF- α . Kemampuan hiperpermeabilitas dalam sel endotel adalah tahap pertama dalam aterosklerosis yang dimulai dengan disfungsi sel endotel. Oleh karena itu, asam asiatic memiliki peran penting dalam mencegah aterosklerosis (Fong *et al.*, 2018). Khasiat lain dari pegagan adalah sebagai obat untuk penyembuhan luka, radang, reumatik, asma, wasir, tuberculosis, lepra, disentri, demam dan penambah selera makan (Besung, 2009).

Dengan banyaknya penelitian tentang tanaman pegagan, maka akan meningkat pula kesadaran masyarakat untuk menggunakan pegagan sebagai obat herbal yang memiliki banyak khasiat. Penggunaan jangka panjang serta berulang dapat menyebabkan efek toksik maupun efek merugikan lainnya.

Pencegahan terjadinya efek toksik, gangguan fisiologis dan kerugian akibat konsumsi pegagan serta kemungkinan pemanfaatan pegagan secara luas, baik sebagai bahan pangan, pengobatan herbal maupun produk olahan lainnya, maka perlu dilakukan penelitian mengenai toksikologi pegagan. Uji toksisitas yang akan diteliti mencakup toksisitas akut serta subkronis yang dilakukan secara *in vivo* pada tikus. Penelitian ini mengamati beberapa parameter, diantaranya pengamatan fisik, ada tidaknya kematian tikus akibat pemberian ekstrak pegagan, kerusakan hati dan ginjal. Selain itu juga penelitian ini juga bermanfaat dalam pengembangan ilmu pengetahuan mengenai efek farmakologis dari pegagan dan juga diharapkan akan dapat memberikan nilai tambah untuk pegagan.

I.2. Rumusan Masalah

1. Berapakah nilai LD50 dari ekstrak pegagan (*Centella asiatica* (L.)) pada tikus galur wistar.
2. Apa kategori keamanan dari ekstrak pegagan (*Centella asiatica* (L.)) pada tikus galur wistar.
3. Bagaimana pengaruh pemberian pegagan secara subkronis terhadap profil hematologi dan fungsi organ.

I.3. Tujuan Penelitian

1. Mengetahui nilai LD50 ekstrak pegagan (*Centella asiatica (L)*) pada tikus.
2. Mengetahui kategori toksisitas dari ekstrak pegagan (*Centella asiatica (L)*) pada tikus.
3. Menguji keamanan toksisitas subkronik ekstrak (*Centella asiatica (L)*) dengan pemberian berulang pada tikus.

I.4. Manfaat Penelitian

1. Memberikan informasi dan menambah pengetahuan mengenai khasiat *water kefir* dalam mengobati kerusakan hati.
2. Dapat membudidayakan dan memanfaatkan *water kefir* di lingkungan masyarakat agar dapat meningkatkan derajat kesehatan masyarakat.

I.5. Hipotesis

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi mengenai keamanan dan toksisitas dari ekstrak tanaman pegagan (*Centella asiatica (L.)*) serta menjadi dasar penelitian lebih lanjut dalam pengembangan obat herbal dari tanaman pegagan.

I.6. Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian dilakukan pada bulan Januari 2020 di Laboratorium Farmakologi Universitas Bhakti Kencana jalan Soekarno-Hatta nomor 754 Bandung.

BAB II. TINJAUAN PUSTAKA

II.1 Monografi tumbuhan pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urban)

II.1.1 Klasifikasi Pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urban)

Menurut Winarto (2003) klasifikasi dari pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urban) adalah sebagai berikut:

Kingdom	: <i>Plantae</i>
Divisio	: <i>Spermatophyta</i>
Sub divisi	: <i>Angiospermae</i>
Kelas	: <i>Dicotyledone</i>
Ordo	: <i>Umbilales</i>
Family	: <i>Umbiliferae (Apiaceae)</i>
Genus	: <i>Centella</i>
Spesies	: <i>Centella asiatica</i> (L.) Urban

II.1.2 Nama lazim

Pegagan merupakan tumbuhan yang mempunyai nama yang berbeda-beda disetiap daerah tempat tumbuhnya. Di Indonesia tumbuhan ini mempunyai beragam sebutan seperti daun kaki kuda, pagago ambun, pugago (Sumatra); pegagan, rendeng, cowet gompeng, pacul gowang (Jawa/Sunda); kos-tekosan (Madura); kisu- kisu (Sulawesi) dan kelai lere (Nusa Tenggara) (Winarto dan Surbakti, 2003) . Untuk wilayah diluar Indonesia tumbuhan ini dikenal dengan nama Indian *waternavelwort* (English); *asiatisches Wassernabelkraut* (German); *be'vilaque, coquelariat, violette marron* (French); gotu kola (Sri Lanka); brahmi, brahmaduki, karivana, mandookaparni, babassa, thankuni, vallari, vallarai (India) *luo de da and ji xue cao* di China (Solet *et al.*, 1998).

II.1.3 Morfologi

Pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urban) tumbuh secara liar dan banyak di temukan di ladang, tepi jalan, pematangan sawah, perkebunan, dan di ladang yang memiliki banyak kandungan air (Besung 2009). Pegagan tumbuh dengan cara merayap menutupi tanah, memiliki tinggi antara 10 – 50 cm dan tidak memiliki batang,. Pegagan memiliki daun satu helaian yang tersusun dalam roset akar dan terdiri dari 2 – 10 helai daun. Daun berwarna hijau dan berbentuk seperti kipas, buah berbentuk pinggang atau ginjal. Pegagan juga memiliki daun

dengan diameter 1- 7 cm dimana pada bagian punggung dan permukaannya licin, tepi daun agak melengkung ke atas, bergerigi, dan adakalanya berambut, tulang daunnya berpusat di pangkal dan tersebar ke ujung (Winarto dan Surbakti, 2003).



Gambar II. 1 Tanaman Pegagan
(sumber: google picture, diambil bulan maret 2019)

II.1.4 Daerah Penyebaran

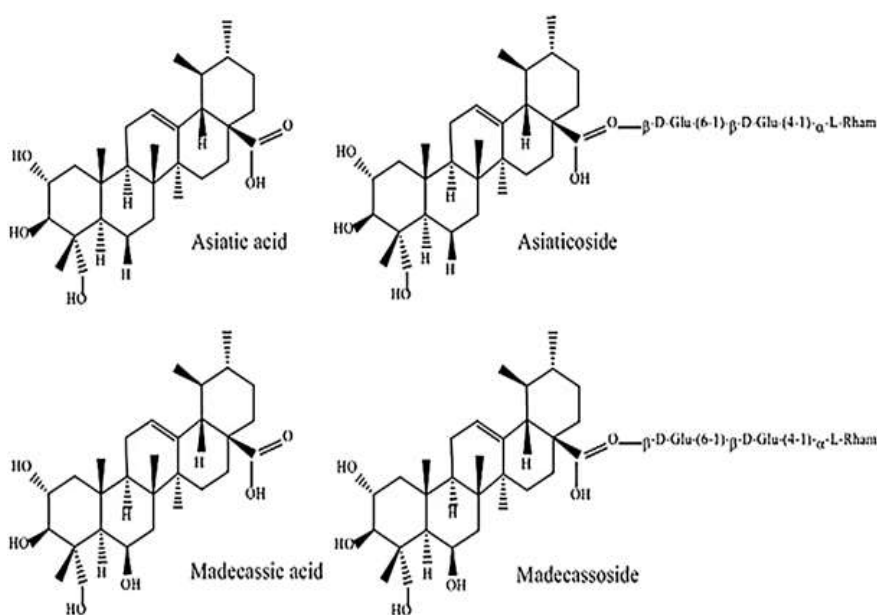
Tumbuhan ini banyak tersebar di daerah - daerah beriklim hangat, di daerah beriklim tropis dan daerah sub tropis seperti India, Sri Lanka, Bangladesh, Indonesia, Malaysia, Cina, Iran, Papua Nugini, Australia Utara dan beberapa bagian Afrika dan Amerika (Solet *et al.*, 1998).

II.1.5 Kegunaan Secara Tradisional Dan Khasiat Farmakologis

Tumbuhan pegagan ini biasanya digunakan sebagai pengobatan tradisional seperti penyembuhan luka, radang, reumatik, asma, wasir, Tuberkulosis, lepra, disentri, demam dan penambah selera makan (Besung, 2009) khasiat tumbuhan pegagan ini selain terbukti secara empiris, banyak penelitian pula yang menyatakan tumbuhan ini memiliki berbagai efek farmakologi antara lain anti kanker (Yingchun *et al.* 2019), *antihiperqlikemia*, *antihiperlipidemia* (Narvariya, Jain, and Shaikh 2019) antioksidan (Arora *et al.* 2018) Antimikroba (Kumar, Vi., Sharma, A., Machawal, L., Nagarajan, K. dan Siddiqui 2014), *Hepatoprotektor* (kumar, Sadiq, and Bharathi 2018), *Neuroprotektif* (Orhan, 2012) *imunomodulator* (Duggina *et al.* 2015) serta mengatasi kekakuan arteri (Hasimun *et al.* 2018)

II.1.6 Kandungan Kimia

Studi ilmiah telah mengungkapkan bahwa *C. asiatica* mengandung lebih dari 70 *phytochemical* (Sabaragamuwa, Perera and Fedrizzi, 2018). kandungan senyawa aktif diantaranya triterpenoid yaitu *asiaticoside*, *madecassoside*, *asam asiatic*, dan *asam madecassic* (James and Dubery 2011). Selain senyawa triterpenoid terdapat pula senyawa flavanoid, glikosida, alkaloid, steroid, minyak atsiri dan lemak (Subban et al. 2008) senyawa triterpenoid merupakan senyawa yang menjadi biomarker dalam *C. Asiatica* antara lain yaitu *asiaticoside*, *madecassoside*, *asam asiatic*, dan *asam madecassic* (Sabaragamuwa *et al.* 2018).



Gambar II. 2 Kandungan triterpenoid *C. Asiatica*
(Sumber Sabaragamuwa *et al.* 2018)

II.2 Toksisitas

Toksisitas adalah kemampuan suatu xenobiotik atau zat asing dalam menimbulkan kerusakan pada organisme baik saat digunakan atau saat berada dalam lingkungan (Priyanto, 2010). Suatu zat kimia memiliki sifat toksisitas yang relatif berbeda- beda untuk menimbulkan efek berbahaya atau penyimpangan mekanisme biologi pada suatu organisme (Rahayu, 2018). Untuk mengetahui tingkat toksisitas dari suatu bahan, dapat dilakukan dengan uji toksisitas. Dengan dilakukan uji toksisitas ini maka dapat diketahui efek samping atau efek toksik dari suatu senyawa kimia, terhadap organisme uji.

Berdasarkan waktu hingga timbulnya gejala toksisitas dapat dinyatakan sebagai berikut : (Rahayu 2018).

- a. Toksisitas akut, jika efek timbul segera atau paparan durasi pendek dalam hitungan jam sampai hari setelah terpapar bahan toksik. Efek akut dapat reversibel atau tidak dapat dipulihkan..
- b. Toksisitas sub akut, jika gejala keracunan timbul dalam jangka waktu setelah sedang (minggu sampai bulan) setelah terpapar bahan toksik dalam dosis tunggal.

Toksisitas kronis, jika akibat keracunan baru timbul setelah terpapar bahan toksik secara berulang-ulang dalam jangka waktu yang panjang (dalam hitungan tahun) atau bahkan dekade. Efek kronis terjadi setelah terpapar dalam waktu lama (bulan, tahun, dekade) dan bertahan setelah paparan telah berhenti.

II.3 Uji Toksisitas

Uji toksisitas adalah suatu uji untuk mengetahui efek toksik dari suatu zat pada sistem biologi dan untuk memperoleh data dosis-respon yang khas dari sediaan uji. Data yang dihasilkan dapat digunakan untuk memberi informasi mengenai tingkat bahaya dari suatu sediaan uji . bila terjadi pemaparan pada manusia, sehingga dapat ditentukan dosis penggunaannya demi keamanan manusia (BPOM, 2014)

Berdasarkan efek lamanya waktu paparan zat toksik, penelitian farmakologi di bagi menjadi tiga kategori menurut (Priyono, 2010)

- a. Uji toksisitas akut
- b. Uji toksisitas jangka pendek (subakut/ kronis)
- c. Uji toksisitas jangka panjang

II.4 Uji Toksisitas Akut

Toksisitas akut adalah efek berbahaya yang terjadi segera setelah terpapar dosis tunggal atau berulang dalam waktu 24 jam (Priyanto, 2010). Sedangkan uji toksisitas akut itu adalah suatu

pengujian untuk mendeteksi efek toksik yang muncul dalam waktu singkat setelah pemberian sediaan uji yang diberikan dalam dosis tunggal dalam waktu 24 jam (BPOM 2014).

Prinsip uji toksisitas akut oral yaitu, sediaan uji dalam beberapa tingkat dosis diberikan pada beberapa kelompok hewan uji dengan satu dosis per kelompok, dan dilakukan pengamatan terhadap adanya efek toksik dan kematian. Evaluasi dilakukan dengan pembedahan Hewan yang mati selama percobaan dan yang hidup sampai akhir percobaan (BPOM 2014).

II.5 Uji toksisitas sub kronis

Uji toksisitas subkronis oral adalah suatu pengujian untuk mendeteksi efek toksik yang muncul setelah pemberian sediaan uji dengan dosis berulang yang diberikan secara oral pada hewan uji selama sebagian umur hewan, tetapi tidak lebih dari 10% seluruh umur hewan (BPOM 2014)

Prinsip dari uji toksisitas subkronis oral adalah sediaan uji dalam beberapa tingkat dosis diberikan setiap hari pada beberapa kelompok hewan uji dengan satu dosis per kelompok selama 28 atau 90 hari, bila diperlukan ditambahkan kelompok satelit untuk melihat adanya efek tertunda atau efek yang bersifat *reversibel*. Selama waktu pemberian sediaan uji, hewan harus diamati setiap hari untuk menentukan adanya toksisitas. Hewan yang mati selama periode pemberian sediaan uji, bila belum melewati periode *rigor mortis* (kaku) segera diotopsi, dan organ serta jaringan diamati secara makropatologi dan histopatologi. Pada akhir periode pemberian sediaan uji, semua hewan yang masih hidup diotopsi selanjutnya dilakukan pengamatan secara makropatologi pada setiap organ dan jaringan. (BPOM 2014)

II.6 Lethal dose 50 (LD₅₀)

Lethal Dose 50 adalah suatu besaran yang diturunkan secara statistik, guna menyatakan dosis tunggal suatu senyawa yang diperkirakan menyebabkan kematian atau menimbulkan efek toksik yang berarti pada 50% hewan percobaan setelah perlakuan (Hodgson, E. 2010). Biasanya, makin kecil nilai LD₅₀ maka semakin toksik senyawa tersebut. Demikian juga sebaliknya, semakin besar nilai LD₅₀ maka semakin rendah toksisitasnya. (Priyanto, 2010)

Metode penentu nilai LD₅₀ dapat dilakukan dengan beberapa metode antara lain :

1. Farmakope indonesia

Menurut Farmakope Indonesia LD₅₀ dihitung dengan rumus :

$$m = a - b (\sum p_i - 0,5)$$

Keterangan :

m = log LD₅₀

a = log dosis terkecil yang masih menyebabkan jumlah kematian 100% pada hewan percobaan.

b = Beda log dosis yang berurutan

p_i = jumlah hewan yang mati menerima dosis i dibagi dengan jumlah hewan seluruhnya yang menerima dosis i.

Persyaratan untuk menggunakan metoda yang tertera dalam Farmakope Indonesia adalah

- Menggunakan seri dosis dengan pengenceran berkelipatan tetap.
- Jumlah hewan percobaan atau jumlah biakan jaringan dalam tiap kelompok harus sama.
- Dosis diatur sedemikian rupa, sehingga dosis yang digunakan memberikan efek kematian dari 0% sampai 100% dan perhitungan dibatasi oleh kelompok percobaan yang memberikan efek dari 0% sampai 100%.

2. Metode Weil

Menurut cara Weil nilai LD₅₀ dihitung dengan rumus (Priyanto, 2009) :

$$\text{Log } m = \log D + d(f + 1)$$

Keterangan :

m = nilai LD₅₀

D = dosis terkecil yang digunakan

d = log dari kelipatan dosis

f = suatu nilai dalam tabel Weil, karena angka kematian tertentu (r).

3. Metode kurva

Metode ini dikembangkan oleh Miller dan Tainter dengan menggunakan kertas log probit. Garis vertikal merupakan nilai probit dan persentase respon dalam skala logaritma,

sedangkan garis horizontal merupakan log dosis yang digunakan. Plot antara nilai log dosis terhadap nilai probit akan menghasilkan kurva berupa garis lurus. Dari kurva tersebut dapat ditentukan harga LD50 (Thompson, 1985).

4. Metode *Reed dan Muench*

Nilai LD50 dihitung dengan menggunakan rumus (Priyanto, 2010) :

$$h = \frac{50\% - a}{b - a}$$

$$i = \log \frac{k}{s}$$

$$g = h \times i$$

$$Y = g + \log s$$

$$\text{LD50} = \text{anti log } Y$$

Keterangan :

a = persentase kematian yang lebih kecil dari 50%

b = persentase kematian yang lebih besar dari 50%

i = kenaikan dosis

k = dosis yang menyebabkan kematian lebih besar dari 50%

s = dosis yang menyebabkan kematian lebih kecil dari 50%

h = ukuran jarak

g = hasil perkalian antara kenaikan dosis dengan ukuran jarak

Y = hasil penjumlahan antara g dengan log s

II.7 Etika Penelitian

Peneliti telah mengajukan *etical approval* ke Komisi Etika Penelitian Kesehatan Fakultas Kedokteran Universitas Lampung dengan menerapkan prinsip 3R dan 5F dalam protokol penelitian menggunakan hewan coba agar terjamin kesejahteraannya. Prinsip 3R yaitu:

1. *Replacement* (menggantikan), ialah keperluan untuk membuktikan suatu hipotesis, bila diperlukan penggunaan hewan coba maka menggunakan hewan yang paling rendah tingkatannya dan tidak dapat digantikan oleh makhluk hidup lain seperti sel atau biakan jaringan.

2. *Reduction* (pengurangan), ialah mengembangkan strategi penggunaan hewan dalam jumlah yang lebih sedikit untuk menghasilkan data yang optimal yang diharapkan dari penelitian. Prinsip ini juga meliputi memaksimalkan informasi yang diperoleh dari suatu percobaan tanpa menambah jumlah hewan atau jumlah perlakuan (rasa kesakitan yang ditimbulkan oleh tindakan penelitian) sehingga manfaat yang diperoleh dapat dimaksimalkan tanpa menambah penderitaan dan jumlah hewan coba.
3. *Refinement* (memperhalus), ialah upaya melakukan modifikasi di dalam manajemen pemeliharaan atau prosedur tindakan penelitian sedemikian rupa sehingga dapat meningkatkan kesejahteraan hewan atau mengurangi atau menghilangkan rasa sakit dan stress pada hewan coba.

Ketiga prinsip etika ini haruslah dikombinasikan dengan 5 prinsip *freedom* dalam kesejahteraan hewan, yakni:

1. *Freedom from hunger and thirst* (bebas dari rasa lapar dan haus), dapat dilakukan dengan pemberian pakan minum yang *ad libitum* dan kemudahan hewan dalam mengakses pakan dan minum kapanpun mereka kehendaki.
2. *Freedom from discomfort* (bebas dari rasa tidak nyaman), dapat dilakukan dengan memperhatikan kebutuhan hewan terhadap tempat tinggal yang sesuai atau pemberian naungan atau sarang yang sesuai. Selain itu faktor lingkungan yang harus diperhatikan meliputi temperatur, kelembaban, ventilasi dan pencahayaan yang harus sesuai dengan kondisi alamiah hewan yang bersangkutan.
3. *Freedom from pain, injury and diseases* (bebas dari rasa sakit, luka dan penyakit), dimana selama penelitian haruslah menjalankan program kesehatan yang telah ditetapkan, menggunakan sebisa mungkin teknik non-invasif, serta jika dibutuhkan haruslah menggunakan obat pengurang rasa sakit atau pematid rasa dan selalu menggunakan metode euthanasia yang dianjurkan dan telah disetujui oleh komisi etik

4. *Freedom from fear and distress* (bebas dari rasa takut dan stres), dapat dilakukan dengan menghindari prosedur atau teknik yang menyebabkan rasa takut dan stres pada hewan dan memberikan masa transisi dan adaptasi sebelum penelitian berlangsung.
5. *Freedom to express natural behaviour* (bebas untuk mengekspresikan tingkah-laku alamiah), dapat diupayakan melalui penyediaan luasan kandang yang cukup, kualitas kandang yang baik, dan teman dari hewan yang sejenis dengan memperhatikan sosialisasi, dan tingkahlaku spesifik.