

# BAB 1

## PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Obat tradisional merupakan bahan atau ramuan bahan yang berasal dari tumbuh-tumbuhan, hewan, dan mineral, sediaan sarian (galenik) atau campuran dari bahan tersebut yang secara turun temurun telah digunakan untuk pengobatan. Saat ini semakin banyak masyarakat yang menggunakan bahan alam sebagai obat, sehingga diperlukan penelitian lebih lanjut mengenai uji keamanan obat tradisional tersebut (Dirjen POM RI, 2000).

Pemakaian bahan alam, terutama yang berasal dari bahan tumbuh-tumbuhan yang digunakan untuk tujuan pencegahan dan pengobatan penyakit telah dikenal sejak zaman dahulu oleh umat manusia. Bahan alam ini dikenal sebagai obat tradisional, oleh karena prinsip-prinsip pemakaiannya masih secara tradisional. Umumnya khasiat obat-obat tradisional sampai saat ini hanya didasarkan pada pengalaman empiris saja (Wijoyo, 2008).

Pengetahuan tentang khasiat dan keamanan tanaman obat di Indonesia biasanya hanya berdasarkan pengalaman empiris yang diwariskan secara turun temurun dan belum teruji secara ilmiah. Obat tradisional dari bahan alam dapat menjadi salah satu alternatif pengobatan yang memungkinkan efektivitas pengobatan yang lebih baik dan diharapkan mempunyai efek samping minimal. Salah satu tanaman tropika yang digunakan sebagai obat tradisional adalah tanaman insulin, yang termasuk ke dalam species *Tithonia diversifolia*. Tanaman ini banyak tumbuh tersebar di seluruh daerah Indonesia, terutama di Yogyakarta dan sekitarnya, umumnya dikenal sebagai tanaman insulin. Tumbuhan insulin ini banyak memiliki senyawa kimia yang berkhasiat dalam bidang-bidang kesehatan.

Saat ini banyak ditemukan pengobatan dengan menggunakan bahan alami. Daun kembang bulan (*Thitonia diversifolia*) merupakan salah satu jenis tumbuhan dari famili asteraceae. Daunnya mengandung beberapa senyawa utama seperti alkaloid, tanin, flavonoid, saponin, terpenoid dan fenol (Amanatie dan Sulistyowati, 2015).

Pada penelitian ini digunakan daun kembang bulan (*Tithonia diversifolia*) dimana pada penelitian dahulu menurut Sari, Lubis, dan Pangestingsih (2013) menyatakan bahwa ekstrak aqua daun *Tithonia diversifolia* memiliki aktifitas sebagai antihiperqlikemia. Pada dosis 150 mg/KgBB dapat menurunkan kadar glukosa darah pada tikus hiperqlikemia. Umar *et al.*, (2015) menunjukkan bahwa hasil analisis kualitatif daun batang dan akar yang diproses menjadi sampel kering dari *Tithonia diversifolia* pada pelarut air dan etanol terdapat kandungan senyawa alkaloid, saponin, tanin, terpenoid, flavonoid dan fenol di semua bagian tanaman. Konstituen fitokimia seperti alkaloid, tanin, saponin, flavonoid, dan terpenoid secara signifikan tertinggi dalam daun dibandingkan dengan yang berasal dari batang dan akar. Senyawa flavonoid yang ada dalam kembang bulan yaitu 5,7,8,3',4' pentahidroksiflavonol atau 5,6,7,3',4' pentahidroksiflavonol (Zirconia, Kurniasih, dan Amalia, 2015) dimana flavonoid aglikon seperti isoflavon, flavonon, dan flavon cenderung lebih larut dalam pelarut yang semipolar (Satolom dkk. 2015).

Tanaman tradisional dengan senyawa antioksidan tingkat tinggi dan kuat seperti *Thitonia diversifolia* yang memiliki peran penting dalam perbaikan gangguan yang melibatkan stres oksidatif seperti diabetes mellitus diabetes mellitus dikaitkan dengan peningkatan pembentukan radikal bebas dan penurunan potensi antioksidan yang memainkan peran penting dalam pengembangan resistensi insulin, disfungsi sel- $\beta$ , gangguan toleransi glukosa, dan diabetes mellitus tipe 2. Antioksidan melindungi sel-

sel  $\beta$  dari oksidasi dengan menghambat reaksi berantai peroksidasi lipid dan memainkan peran penting dalam diabetes. Efek antioksidan terutama disebabkan oleh komponen fenolik, seperti flavonoid, asam fenolik, dan diterpenes fenolik yang dapat menunda atau menghambat oksidasi lipid atau molekul lain dengan menghambat inisiasi atau propagasi reaksi rantai oksidatif (Thongsom *et al.*, 2013).

*Tithonia diversifolia* dapat digambarkan dengan jelas sebagai spesies semak yang berbunga, tumbuh tinggi hingga lebih dari 2-3 m (6,6-9,8 kaki). Bunganya lebarnya 5-15 cm dan berbentuk seperti bunga aster. *Tithonia diversifolia* tumbuh di daerah tropis dan subtropis di mana ia tumbuh liar sebagai gulma di pinggir jalan, lahan terlantar, ladang tanaman, dan perumahan. Beberapa penelitian menyebutkan adanya alkaloid, tanin, flavonoid, saponin, terpenoid dan fenol di daun, akar dan batang *Tithonia diversifolia*. Seskuiterpeneoid, diterpenoid dan flavonoid dianggap sebagai komponen yang paling menonjol pada *Tithonia diversifolia* (Tagne, Marino and Cosentino, 2018). Kandungan kimia daun *Thitonia diversifolia* diduga mengandung poli fenol diduga sebagai penyebab munculnya efek toksik dihepar dan jantung (Amanatie dan Sulistyowati, 2015).

Dalam penggunaan obat herbal, perlu diketahui keamanannya agar tidak menimbulkan efek bahaya yang tidak diinginkan. Oleh karena itu perlu dilakukan pengujian lebih lanjut pada hewan uji untuk melihat ada atau tidak adanya efek toksik untuk menjamin keamanan penggunaannya. Hasil dari penelitian yang dilakukan diharapkan dapat memberikan informasi terkait LD<sub>50</sub> dan penggunaan dosis yang tepat saat membuat sediaan yang berasal dari ekstrak etanol daun kembang bulan (Aswin, 2016). Uji toksisitas akut adalah tata cara tertentu yang dirancang untuk menentukan dosis letal (LD<sub>50</sub>) suatu zat dan kemungkinan mekanisme kerja dan target organnya. LD<sub>50</sub> didefinisikan sebagai dosis atau konsentrasi

yang diberikan sekali (tunggal) dalam 24 jam dari satu zat yang secara statistik diharapkan dapat mematikan 50% hewan coba (Priyanto, 2010).

Toksisitas dapat menyebabkan kerusakan beberapa organ tubuh, salah satunya adalah hepar, organ ini sering terpapar zat kimia yang akan mengalami detoksifikasi dan inaktivasi sehingga zat kimia tersebut menjadi tidak berbahaya bagi tubuh. Kerusakan hati karena obat dan zat kimia dapat terjadi akibat hilangnya kemampuan regenerasi sel hati, sehingga hati akan mengalami kerusakan permanen yang dapat menimbulkan kematian. Uji toksisitas diperlukan untuk menilai keamanan suatu obat, maupun bahan yang dipakai sebagai suplemen ataupun makanan. Hal ini juga untuk melindungi masyarakat dari efek yang mungkin merugikan efek toksik obat-obatan sering terlihat dalam hepar, dikarenakan hepar berperan sentral dalam memetabolisme semua obat dan bahan-bahan asing yang masuk tubuh. Hepar akan mengubah struktur obat yang lipofilik menjadi hidrofilik sehingga mudah dikeluarkan dari tubuh melalui urin atau empedu (Priyanto, 2010).

Pada pedoman interpretasi data klinik yang dikeluarkan oleh Kementerian Kesehatan Republik Indonesia pada tahun 2011 menunjukkan bahwa dapat terjadi peningkatan dan penurunan jumlah eritrosit menandakan adanya penurunan fungsi tubuh terutama hati dan ginjal, penurunan jumlah eritrosit dapat terjadi karena adanya kelainan atau kerusakan pada organ misalnya pada hepar dan ginjal yang parah karena pada pembentukan eritrosit atau yang sering disebut eritropoiesis proses eritropoiesis diatur oleh glikoprotein bernama eritropoietin yang diproduksi ginjal dan hati. Peningkatan eritrosit dapat terjadi karena adanya kerusakan pada sel (Saputro dan Junaedi, 2015). Kembang bulan merupakan salah satu tanaman obat tradisional di Indonesia. Tanaman ini umumnya tumbuh liar di tempat-tempat curam, misalnya di tebing-tebing, dan tepi sungai

(Prasetyo, 2016). Tumbuhan ini kurang dikenal masyarakat Indonesia, tanaman ini ternyata memiliki manfaat yang sangat besar untuk berbagai pengobatan, salah satunya untuk menanggulangi penyakit diabetes mellitus (Amanatie dan Sulistyowati, 2015).

Dalam penggunaan obat herbal, perlu diketahui keamanannya agar tidak menimbulkan efek berbahaya yang tidak diinginkan, maka dari itu perlu dilakukan pengujian lebih lanjut pada hewan uji untuk melihat ada tidaknya efek toksik untuk menjamin keamanan penggunaannya. Hasil dari penelitian yang dilakukan diharapkan dapat memberikan informasi terkait LD<sub>50</sub> dan penggunaan dosis yang tepat saat membuat sediaan yang berasal dari ekstrak etanol daun kembang bulan (*Tithonia diversifolia*) serta dapat mengenali tanda-tanda toksik yang terjadi. Uji toksisitas akut adalah tata cara tertentu yang dirancang untuk menentukan dosis letal median (LD<sub>50</sub>) suatu zat dan kemungkinan mekanisme kerja dan target organnya. LD<sub>50</sub> didefinisikan sebagai dosis atau konsentrasi yang diberikan sekali (tunggal) atau beberapa kali dalam 24 jam dari satu zat yang secara statistik diharapkan dapat mematikan 50% hewan coba (Priyanto, 2010).

Uji toksisitas adalah uji untuk mendeteksi efek toksik suatu zat pada sistem biologi, dan untuk memperoleh data dosis dan respon yang khas dari sediaan uji. Data yang diperoleh dapat digunakan untuk memberi informasi mengenai derajat bahaya sediaan uji tersebut bila terjadi paparan pada manusia, sehingga dapat ditentukan dosis penggunaannya demi keamanan manusia. Bahaya akibat paparan suatu zat pada manusia dapat diketahui dengan mempelajari efek kumulatif, dosis yang dapat menimbulkan efek toksik pada manusia, efek karsinogenik, teratogenik, dan mutagenik. Umumnya informasi tersebut dapat diperoleh dari percobaan menggunakan hewan uji sebagai model yang dirancang pada serangkaian uji toksisitas nonklinik secara *in vivo* (BPOM, 2014). Uji pendahulu

menggunakan sel kanker secara *in vitro* *Tithonia diversifolia* berpotensi dikembangkan sebagai antikanker akan tetapi memiliki efek sitotoksik pada sel HTC-116 (Goffin, 2002) yang merusak hepar dan menyebabkan adanya sel nekrosis yang terjadi pada mencit.

*Thitonia diversifolia* juga dapat meningkatkan hemoglobin, eritrosit, hitung MCHC dan trombosit (Owoyelle *et al.*, 2005). Peningkatan jumlah eritrosit berkaitan dengan peningkatan kadar glutathione pada sel darah merah. Senyawa tanin dari *Thitonia diversifolia* dapat meningkatkan kadar glutathione dalam sel darah merah. Salah satu komponen senyawa sulfur yang berfungsi meningkatkan level glutathione sel darah merah (Sheen, Zhou, and Jang, 1999). Ekstrak daun kembang bulan tunggal tidak terbukti menimbulkan efek toksik pada jumlah eritrosit. Hal ini sejalan dengan penelitian Metwally (2009) dan Gebreyohannes *et al.*, (2013), ekstrak daun kembang bulan menunjukkan efek antioksidan dan meningkatkan kadar serum dua enzim antioksidan, yaitu katalase dan glutathione peroksidase (Prasad *et al.*, 1994).

Nuri dkk. (2008) telah melakukan penelitian uji toksisitas ekstrak etanol daun kembang bulan dengan dosis 144 mg/kgBB, 187 mg/kgBB, 273 mg/kgBB, pada dosis 144 mg/kgBB, hasil penelitian menunjukkan pada dosis 144 mg/kgBB memiliki aktifitas antimalaria tetapi tidak mempengaruhi fungsi hati dan ginjal dengan tidak adanya perubahan pada gambaran histopatologi hati. Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Utami dkk. (2011), uji toksisitas dilakukan pada 4 kelompok, yaitu kelompok kontrol yang diberikan larutan CMC Na 1%, kelompok I yang diberikan larutan uji dengan dosis 79,8 mg/kgBB (1x dosis), kelompok II diberikan larutan uji dengan dosis 789 mg/kgBB (10x dosis), dan kelompok III diberikan larutan uji dengan dosis 1596 mg/kgBB (20x dosis). Hasil

pengamatan tidak menunjukkan adanya kematian pada hewan coba dan tidak menunjukkan sel nekrosis pada histopatologi ginjal dan hepar.

Penelitian lebih lanjut menyatakan bahwa ekstrak air daun dosis 200 mg/kg BB dan ekstrak etanol daun kembang bulan dosis 100 mg/kg BB menunjukkan efek hipoglikemik paling efektif dibandingkan dengan kelompok kontrol pada metode uji toleransi glukosa (Dewi, 2014). Selain itu, secara *in-vitro* ekstrak etanol daun kembang bulan terbukti aktif menghambat pertumbuhan. Penelitian toksisitas akut ini menggunakan ekstrak etanol dari daun kembang bulan dengan 300 mg/kgBB, 2000 mg/kgBB, dan 5000 mg/kgBB. Dosis ini dipilih berdasarkan dosis optimal sebagai dosis bertingkat menggunakan metode *fixed doses* menurut BPOM (2014). Uji toksisitas ini merupakan salah satu bagian dari rangkaian studi preklinik untuk mendukung penggunaan bahan tumbuhan ini, penelitian ini termasuk dalam kategori penelitian obat herbal terstandar yang sediaan bahan alam telah dibuktikan keamanan dan khasiatnya secara ilmiah dengan uji praklinik dengan bahan baku yang telah di standarisasi (BPOM, 2005).

Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Solihah dkk (2005) tentang uji toksisitas akut ekstrak air daun kembang bulan dengan dosis 5, 50, 300, 2000, 5000 mg/kgBB, pada dosis 300 mg/kgBB hewan uji mengalami penurunan berat badan. Penurunan berat badan yang drastis dan memiliki perbedaan bermakna bila dibandingkan dengan kontrol biasanya merupakan pertanda kesehatan yang buruk. Keadaan ini dapat disebabkan oleh adanya tanda toksik spesifik. Nilai indeks organ jantung kelompok hewan yang diberi sediaan uji dosis 300 mg/kgBB lebih besar jika dibandingkan dengan kontrol.

Toksisitas dapat menyebabkan kerusakan beberapa organ tubuh, salah satunya adalah hepar. Uji toksisitas diperlukan untuk menilai keamanan suatu obat, maupun bahan yang dipakai sebagai suplemen

ataupun makanan. Hal ini juga untuk melindungi masyarakat dari efek yang mungkin merugikan efek toksik (Priyanto, 2010). Berdasarkan hal tersebut, maka dilakukanlah uji toksisitas akut yang diukur dengan penentuan LD50 ekstrak etanol daun kembang bulan (*Tithonia diversifolia*) terhadap mencit jantan (*Mus musculus*).

## **1.2 Rumusan Masalah**

1. Berapakah dosis letal 50 (LD<sub>50</sub>) dari ekstrak etanol daun kembang bulan (*Tithonia diversifolia*) pada mencit jantan galur *Swiss Webster*?
2. Berapakah jumlah sel eritrosit pada darah mencit jantan galur *Swiss Webster* pada uji toksisitas akut ekstrak etanol daun kembang bulan (*Tithonia diversifolia*)?
3. Bagaimana gambaran histopatologi hepar mencit jantan galur *Swiss Webster* pada uji toksisitas akut ekstrak etanol daun kembang bulan (*Tithonia diversifolia*)?

## **1.3 Tujuan Penelitian**

2. Mengetahui berapa dosis letal 50 (LD<sub>50</sub>) dari ekstrak etanol daun kembang bulan (*Tithonia diversifolia*) pada mencit jantan galur *Swiss Webster*.
3. Mengetahui jumlah sel eritrosit pada mencit jantan galur *Swiss Webster* pada uji toksisitas akut ekstrak etanol daun kembang bulan (*Tithonia diversifolia*)
4. Menganalisis gambaran histopatologi hepar mencit galur *Swiss Webster* pada uji toksisitas akut ekstrak etanol daun kembang bulan (*Tithonia diversifolia*).

#### **1.4 Hipotesis Penelitian**

2. Dosis letal 50 (LD<sub>50</sub>) dari ekstrak etanol daun kembang bulan (*Tithonia diversifolia*) berada pada kisaran 2000-5000 mg/kgBB.
3. Jumlah sel eritrosit pada mencit jantang galur *Swiss Webster* setelah pemberian ekstrak etanol daun kembang bulan (*Tithonia diversifolia*).
4. Pada indeks organ hepar mencit tidak ditemukan efek toksik dari ekstrak etanol daun kembang bulan (*Tithonia diversifolia*).

#### **1.5 Manfaat Penelitian**

1. Melalui penelitian ini diharapkan dapat diketahui LD<sub>50</sub> yang dapat menimbulkan gejala toksisitas dari ekstrak etanol daun kembang bulan (*Tithonia diversifolia*).
2. Memberi informasi ilmiah tentang data toksisitas ekstrak daun kembang bulan (*Tithonia diversifolia*) dengan melihat jumlah sel eritrosit pada darah mencit.