

## UJI TOKSISITAS AKUT EKSTRAK ETANOL DAUN BULIAN (*Eusideroxylon zwageri*) TERHADAP FUNGSI GINJAL MENCIT PUTIH BETINA (*Mus musculus* Linn.)

Amalia Sakinah<sup>1</sup>, Muhaimin<sup>2</sup>, Yuliawati<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Jurusan Farmasi, Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan, Universitas Jambi, Jambi, Indonesia

<sup>2</sup>Jurusan Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Padjajaran, Bandung, Indonesia

\*Email: yuliawati.saputra@gmail.com

### INTISARI

*Eusideroxylon zwageri* memiliki manfaat secara empiris yang dapat digunakan untuk mengobati demam, sakit perut, dan alergi. Dalam menjadikan obat tradisional sebagai fitofarmaka perlu dilakukan pengembangan obat melalui tahap uji praklinik dengan melakukan uji toksisitas untuk memperkirakan munculnya efek toksik sesudah dilakukan pemberian sediaan uji dalam waktu singkat. Tujuan penelitian untuk mengetahui toksisitas akut ekstrak etanol *Eusideroxylon zwageri* terhadap fungsi ginjal mencit putih betina yang dinilai dengan kadar kreatinin serum darah mencit dan histologi organ ginjal. Penelitian ini menggunakan metode Rancangan Acak Lengkap (RAL) dan *posttest control group design* terdiri dari kontrol negatif (Na CMC 0,5%), P1 (250 mg/kgBB), P2 (500 mg/kgBB), P3 (1.000 mg.kg/BB) dan P4 (2.000 mg.kg/BB) ekstrak etanol *Eusideroxylon zwageri*. Parameter yang diamati nilai LD<sub>50</sub>, kadar kreatinin serum, berat organ ginjal dan histologi ginjal dengan penentuan nilai skoring kerusakan ginjal menggunakan metode skoring vanient. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak etanol *Eusideroxylon zwageri* sampai dosis 2.000 mg/kgBB tidak menunjukkan adanya kematian terhadap hewan uji sehingga nilai LD<sub>50</sub> semu yaitu >2.000 mg/kgBB. Namun pemberian ekstrak etanol *Eusideroxylon zwageri* ini dapat meningkatkan kadar kreatinin serum di atas normal dan berpengaruh secara nyata terhadap gambaran histologi ginjal mencit yang menyebabkan kerusakan organ ginjal.

**Kata kunci:** *Eusideroxylon zwageri*, Histologi ginjal, Kreatinin serum, Toksisitas akut

### ABSTRACT

*Eusideroxylon zwageri* has empirical benefits that can be used to treat fever, stomach pain, and allergies. Purpose of this study was to determine acute toxicity the ethanolic extract of *Eusideroxylon zwageri* on kidney function of female white mice which was assessed by looking at serum creatinine level of the mice blood and the histology of kidney organs. This study used a completely randomized design and *posttest control group design* consisting of negative control (Na CMC 0.5%), P1 (250 mg/kgBB), P2 (500 mg/kgBB), P3 (1,000 mg. kg/BB) and P4 (2,000 mg.kg/BB) ethanol extract *Eusideroxylon zwageri*. Parameters observed were LD<sub>50</sub> values, serum creatinine levels, kidney weight and kidney histology by determining tvalue scoring for kidney damage using vanient scoring method. Results showed that ethanol extract of *Eusideroxylon zwageri* up to a dose of 2,000 mg/kgBB did not show any death in test animals so that the pseudo LD<sub>50</sub> value was >2,000 mg/kgBB. However, the administration ethanolic extract of *Eusideroxylon zwageri* can increase serum creatinine levels above normal and significantly affect the histology of the mice kidney which causes kidney damage.

**Key words:** Acute toxicity, *Eusideroxylon zwageri*, Kidney histology, Serum creatinine

## PENDAHULUAN

Tanaman bulian yang memiliki nama ilmiah *Eusideroxylon zwageri* merupakan salah satu komoditas hutan yang termasuk famili Lauraceae. Tanaman ini tersebar pada beberapa daerah di Indonesia yaitu di provinsi Jambi, Sumatera Selatan dan Kalimantan. Tanaman bulian ini terdapat beberapa perbedaan nama pada masing-masing daerah diantaranya bulian (Jambi), bulian rambai onglon (Sumatera Selatan), telian, belian, tulian, tubulin dan ulin (Kalimantan). Habitat asli bulian di Provinsi Jambi terdapat di Taman Hutan Raya Sultan Thaha Senami yang terletak pada Kecamatan Muaro Bulian, Kabupaten Batanghari (Daulay, 2013).

*E. zwageri* secara empiris digunakan sebagai obat sakit perut, alergi dan demam (Mariani dkk., 2020). Kandungan senyawa aktif ekstrak *E. zwageri* terdiri atas alkaloid, tanin, saponin, flavonoid serta steroid (Khairunnisa, 2017). Dalam *E. zwageri* juga terdapat kandungan senyawa alkaloid jenis aporfin (Afrida, 2014). Berdasarkan penelitian sebelumnya mengenai *E. zwageri* oleh Mariani dkk (2020) tentang ekstrak metanol *E. zwageri* dengan respon hambatan pertumbuhan bakteri sedang hingga kuat sehingga bisa menghambat perkembangan bakteri *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhi* dan *Escherichia coli*. Selanjutnya penelitian terdahulu oleh Sandra (2021) mengenai ekstrak etanol *E. zwageri* dapat menurunkan kadar gula darah pada mencit putih jantan dengan dosis paling efektif yaitu 100 mg/kgBB. Penelitian lain oleh Muhaimin dkk (2016) berhasil melakukan isolasi senyawa eusiderin A yang terdapat pada kayu *E. zwageri* dengan melakukan pengujian aktivitas antijamur patogen tanaman *Rhizoctonia solani* dengan hasil daya hambat paling efektif yaitu 5 ppm

Dalam proses menjadikan obat tradisional sebagai fitofarmaka perlu dilakukan pengembangan obat meliputi tahap seleksi, uji praklinik dan uji klinik. Pengujian toksisitas dan uji aktivitas dilakukan sebagai bentuk pengujian praklinik (Pradono dkk., 2019). Pengujian toksisitas ini berguna untuk mendeteksi tingkat kerusakan yang disebabkan oleh suatu senyawa terhadap materiologi maupun nonbiologi serta sangat penting dalam perkembangan obat baru untuk mengetahui potensi terapi yang dimiliki oleh molekul suatu obat (Sasmito dkk., 2015). Uji toksisitas praklinik terdapat beberapa macam pengujian, salah satunya dengan pengujian toksisitas akut oral. Untuk memperkirakan munculnya efek toksik sesudah diberikan sediaan uji secara singkat dengan dosis tunggal maupun dosis berulang dalam waktu 24 jam secara oral maka dilakukan uji toksisitas akut oral (BPOM, 2014). Uji LD<sub>50</sub> merupakan penentuan dosis yang menyebabkan kematian 50% populasi hewan percobaan yang terpapar senyawa kimia dari sediaan uji dan dinyatakan dengan satuan mg/kgBB.

Ginjal merupakan organ utama yang menjadi sasaran efek toksik yang memiliki peranan untuk membawa toksikan melewati tubulus, mengkonsentrasi toksikan pada filtrate serta mengaktifkan beberapa toksikan tertentu (Lu, 1995). Ketika suatu zat toksik masuk ke dalam tubuh, ginjal juga rentan terkena efek toksisitas. Oleh karena itu, penelitian ini perlu dilakukan untuk bisa mengetahui efek toksik ekstrak etanol *E. zwageri* terhadap fungsi ginjal mencit putih betina.

## METODE PENELITIAN

### Alat dan Bahan

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini diantaranya gelas beker (Pyrex®), Erlenmeyer (Pyrex®), batang pengaduk, tabung reaksi, alat bedah, gelas ukur, botol maserasi, kertas saring, grinder, cawan porselin, mortir dan stamper, timbangan digital, rotary evaporator, sonde oral, spuit 1 CC, neraca analitik, corong, stopwatch, oven, kandang mencit, kawat, tempat pakan dan minum hewan, *waterbath*, *hot plate*, Mikrotom, Mikroskop Olympus CX43, cover glass, object glass, mikropipet, *vacuum tube plain*, sentrifuge, kuvet dan spektrofotometer.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu daun bulian (*Eusideroxylon zwageri*), etanol 70%, Na-CMC, Aquadest, HCl, serbuk Mg, pereaksi dragendroff, pereaksi mayer, FeCl<sub>3</sub>, asam asetat, asam sulfat, reagen kit kreatinin, NaCl 0,9 %, larutan NBF (Neutral Buffered Formaline) 10%, alkohol bertingkat (70%, 80%, 90%, 96% dan absolut), paraffin, xylol dan

Haemotoksilin Eosin (HE), mencit putih betina (*Mus musculus*) galur Swiss Webster umur berkisar 3-4 bulan dengan bobot antara 20-30 gram.

#### **Pembuatan Simplisia dan Ekstrak Etanol *E. zwageri***

Sampel *E. zwageri* diambil di Kecamatan Mandiangin, Kabupaten Sarolangun, Provinsi Jambi. Sampel dideterminasi di Herbarium Universitas Andalas Padang. Pembuatan simplisia menggunakan daun segar sebanyak 5 kg, lalu dilakukan proses pembersihan dengan sortasi basah, pencucian, perajangan, pengeringan, penghalusan sehingga didapatkan serbuk simplisia yang selanjutnya dilakukan pembuatan ekstrak etanol daun bulian menggunakan metode maserasi.

Proses maserasi dilakukan dengan melarutkan serbuk simplisia daun *E. zwageri* sebanyak 500 gram ke dalam 5 liter etanol 70% selama 6 jam pertama sembari sesekali dilakukan pengadukan, kemudian didiamkan selama 18 jam. Larutan filtrat (maserat) dan ampas dipisahkan melalui penyaringan. Proses maserasi diulangi 2 kali dengan etanol 70% sebanyak 2,5 liter. Ekstrak yang diperoleh dikumpulkan dan dipekatkan dengan *rotary evaporator* suhu 60°C sehingga didapatkan ekstrak etanol daun *E. zwageri*. Rendemen ekstrak yang diperoleh dihitung untuk mengetahui efisiensi proses ekstraksi. Selanjutnya dilakukan uji karakteristik ekstrak yaitu parameter spesifik yang terdiri dari pemeriksaan identitas, organoleptis ekstrak dan parameter non spesifik terdiri dari kadar air, kadar abu. Pengujian kandungan senyawa metabolit sekunder ekstrak etanol daun *E. zwageri* dilakukan terhadap senyawa alkaloid, flavonoid, tannin, saponin dan steroid.

#### **Pengujian Toksisitas Akut**

Larutan suspensi Na CMC 0,5% dibuat sebanyak 100 mL, dilanjutkan dengan membuat suspensi ekstrak etanol daun *E. zwageri* dengan cara ditimbang ekstrak sesuai dosis 250 mg/kgBB, 500 mg/kgBB, 1000 mg/kgBB dan 2000 mg/kgBB. Masing-masing ekstrak dimasukkan ke dalam lumpang dan ditambahkan Na CMC 0,5% sebanyak 10 mL lalu digerus hingga homogen. Pengujian toksisitas akut mengacu pada (BPOM, 2014) yaitu mencit dibagi menjadi 5 kelompok perlakuan dengan setiap kelompok terdiri dari 7 ekor hewan uji. Mencit dipuaskan terlebih dahulu sebelum dilakukan perlakuan dalam waktu 3-4 jam, akan tetapi pemberian air minum tetap bisa dilakukan. Setelah selesai dipuaskan, mencit ditimbang lalu diberikan sediaan uji. Pemberian sediaan uji dosis tunggal menggunakan sonde. Selanjutnya gejala toksisitas tertunda diamati secara sistematis pada menit ke 5, 30, 60, 120 dan secara periodik selama 4 jam serta 24 jam dan 14 hari setelah sediaan uji diberikan. Pengamatan toksisitas tertunda meliputi pengamatan pada kondisi penurunan aktivitas gerak, diare, salivasi, agresif, grooming, tidur dan kematian. Setelah pengamatan selama 14 hari maka dihitung jumlah mencit yang mengalami kematian untuk dihitung nilai LD<sub>50</sub>. Darah mencit diambil untuk pemeriksaan kreatinin serum darah lalu dilakukan pembedahan pada hewan uji untuk diambil organ ginjal dan dilakukan pemeriksaan histologi organ tersebut.

#### **Penentuan Kadar Kreatinin Serum dan Berat Organ Ginjal**

Penentuan kadar kreatinin serum dilakukan dengan cara darah mencit diambil lalu dimasukkan ke dalam *vacuum tube plain* dan didiamkan selama 30 menit pada suhu kamar, kemudian disentrifugasi selama 10 menit dengan kecepatan 3000 rpm sehingga didapatkan serum (cairan bening di bagian atas). Serum darah diambil sejumlah 50 mikroliter direaksikan dengan 1000 mikroliter reagen kreatinin dalam kuvet. Absorbansi diukur dengan spektrofotometer pada suhu 37°C dan panjang gelombang 492 nm, sehingga didapatkan kadar kreatinin serum.

Organ ginjal mencit diambil kemudian ditimbang dan dihitung berat organ relatif dengan rumus:

$$\text{Berat organ relatif} = \frac{\text{Berat organ (g)}}{\text{Berat badan hewan (g)}} \times 100$$

## Histologi Ginjal

Pembuatan preparat histologi ginjal mengacu pada Widodo (2018) meliputi tahapan *fixation*, *dehydration*, *clearing*, *infiltration*, *embedding*, *sectioning*, *staining* dan *mounting*. Organ ginjal mencit dibersihkan dengan NaCl 0,9% dan berat organ dilakukan penimbangan. Sampel organ difiksasi dalam larutan NBF (Neutral Buffered Formaline) 10% selama 24-48 jam. Selanjutnya sampel organ didehidrasi menggunakan alkohol bertingkat (70, 80, 90 dan 96% dan alkohol absolut), lalu dijernihkan dalam xylol (*clearing*), selanjutnya diinfiltrasi dengan parafin I, parafin II dan parafin III. Proses selanjutnya *embedding* yaitu pembuatan blok paraffin dan dilakukan *sectioning* yaitu memotong ginjal menggunakan mikrotom dengan ukuran 3-4  $\mu\text{m}$  dan dipindahkan pada incubator (*water bath*) suhu 37-40°C hingga mengembang lalu diletakkan pada gelas objek, dimasukkan dalam incubator (*hot plate*) suhu 40-45°C sampai jaringan melekat sempurna. Hasil sayatan dilakukan *staining* dengan pewarnaan baku Hematoksin Eosin (HE). Jaringan selanjutnya diambil dan diberi entelan sebelum ditutup dengan *cover glass* (*mounting*).

Pengamatan histologi ginjal secara mikroskopis menggunakan mikroskop dengan kamera digital Leica ICC50 dengan cara preparat diamati melalui perbesaran 40 x 10 dengan 5 lapangan pandang. Penentuan kriteria penilaian derajat kerusakan tubulus ginjal menggunakan metode skoring Venient (Widodo, 2018). Kriteria penilaian derajat kerusakan ginjal tampak pada tabel I.

**Tabel I. Kriteria penilaian derajat kerusakan organ ginjal metode skoring**

Tingkat Perubahan	Nilai
Tidak ada sel yang terdapat nekrotik	0
<50% sel nekrotik	1
51-70% sel nekrotik	2
71-100% sel nekrotik	3

Keterangan:

0 = Normal

1 = Kerusakan rendah

2 = Kerusakan sedang

3 = Kerusakan tinggi

## Analisis data

Data toksisitas tertunda dan histologi dianalisis secara deskriptif. Pengamatan toksisitas tertunda ini termasuk kondisi penurunan aktivitas gerak, diare, salivasi, agresif, *grooming*, tidur dan kematian. Data gambaran histologi ginjal dianalisis tentang kerusakan sel tubulus ginjal dibandingkan dengan normal. Data kreatinin serum dan skoring histologi ginjal dianalisis dengan *One Way Anova (Analysis of Variance)* menggunakan SPSS, kemudian dilakukan uji lanjut dengan uji Duncan.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil uji skirining fitokima ekstrak etanol daun *E. zwageri* terdapat kandungan senyawa metabolit sekunder diantaranya tanin, flavonoid, saponin, alkaloid dan steroid (Tabel II). Hal ini sesuai dengan penelitian Khairunnisa (2017) bahwa ekstrak etanol daun *E. zwageri* mengandung senyawa metabolit sekunder yaitu tanin, alkaloid, flavonoid, steroid serta saponin. Potensi ketoksikan yang teramati dari ekstrak *E. zwageri* terkait dengan kandungan salah satu atau beberapa senyawa metabolit sekunder tersebut.

### Penentuan nilai LD<sub>50</sub>

Tabel III menunjukkan bahwa melalui pemberian sediaan uji yaitu ekstrak etanol *E. zwageri* secara peroral pada mencit ternyata tidak menimbulkan kematian, maka tidak didapatkan nilai LD<sub>50</sub>. Namun didapatkan nilai LD<sub>50</sub> semu yaitu >2.000 mg/kgBB yang artinya di atas dosis tersebut (dosis tertinggi yang digunakan) kemungkinan dapat menyebabkan kematian.

**Tabel II. Skrining fitokimia ekstrak etanol daun *E. zwageri***

Jenis Senyawa	Hasil Skrining
Tanin	+
Flavonoid	+
Alkaloid	+
Steroid	+
Saponin	+

Ket: +(positif)= terdapat senyawa dalam ekstrak etanol daun bulian

**Tabel III. Hasil persentase kematian hewan uji**

Kelompok	Jumlah Hewan	Dosis (mg/kgBB)	Jumlah Hewan Mati	%Kematian
<b>Kontrol</b>	5	0	0	0
<b>P1</b>	5	250	0	0
<b>P2</b>	5	500	0	0
<b>P3</b>	5	1.000	0	0
<b>P4</b>	5	2.000	0	0

#### Pengamatan toksisitas tertunda

Berdasarkan tabel IV hasil pengamatan toksisitas tertunda atau gejala toksik terdapat dua gejala toksik yang teramati, meliputi kondisi penurunan aktivitas gerak, diare, salivasi, agresif, *grooming* dan tidur. Namun yang terlihat pada penelitian ini yaitu agresifitas dan *grooming*.

**Tabel IV. Hasil pengamatan toksisitas tertunda**

Kelompok	Menit ke-							
	5	30	60	120	240	24 Jam	48 Jam	14 Hari
Kontrol	-	-	-	-	-	-	-	-
P1	-	-	-	-	-	-	-	-
P2	+	+	-	-	-	-	-	-
P3	+, ++	-	+	-	-	-	-	-
P4	+, ++	+, ++	+	-	-	-	-	-

Ket: K- =Na CMC 0,5%; P1= Ekstrak etanol daun bulian 250 mg/kgBB; P2= Ekstrak etanol daun bulian 500 mg/kgBB; P3= Ekstrak etanol daun bulian 1.000 mg/kgBB; P4= Ekstrak etanol daun bulian 2.000 mg/kgBB. (-)= Tidak terlihat gejala toksik, (+)=Gejala toksik terlihat yaitu agresifitas, (++)=Gejala toksik terlihat dengan adanya *grooming*

Agresif disebabkan oleh stimulasi sistem saraf pusat atau saraf simpatik (Efriyendi dkk., 2017). Agresifitas ditandai dengan mencit memanjat-manjat sisi kandang dan berkelahi antar sesamanya. Berdasarkan percobaan ini munculnya agresif pada pemberian dosis 500, 1.000 dan 2.000 mg/kgBB yang terlihat pada menit ke 5, 30 dan 60. Hal ini menunjukkan bahwa pemberian ekstrak etanol daun *E. zwageri* dengan salah satu kandungan kimia yaitu alkaloid mampu mempengaruhi stimulasi sistem saraf pusat (Febrianasar dkk., 2016).

*Grooming* adalah reaksi umum mencit jika mengalami alergi terhadap benda asing dan penurunan persentase reaksi tersebut menunjukkan bahwa mencit mampu segera menyesuaikan diri (Dewi dkk., 2015). Efek *grooming* juga menandakan terjadinya perangsangan sistem saraf pusat pada mencit karena pengaruh saraf simpatis (Sujana dkk., 2020). Munculnya *grooming* terlihat pada pemberian dosis 1.000 mg/kgBB dan 2.000 mg/kgBB pada menit ke 5 dan 10. Intensitas *grooming* yang muncul hanya terhitung 1 sampai 2 kali pada hewan percobaan selama waktu pengamatan. Setelah 60 menit pengamatan aktivitas *grooming* tidak terlihat lagi, mencit sudah beraktivitas normal seperti biasa. Munculnya gejala *grooming* ini dikarenakan penyesuaian hewan uji terhadap ekstrak etanol *E. zwageri* yang masuk ke dalam tubuh. Selain itu ekstrak etanol *E. zwageri* juga mengandung alkaloid yang mampu menghambat kerja sistem saraf pusat (Sulastra dkk., 2020).

### Kadar Kreatinin Serum dan Berat Organ Ginjal

Hasil Tabel V menunjukkan kadar kreatinin serum darah setelah diberikan ekstrak etanol *E. zwageri* mengalami perubahan dari kelompok kontrol yang memiliki kadar kreatinin serum 0,31 mg/dL. Kelompok P1 memiliki kadar kreatinin serum 1,2 mg/dL, kelompok P2 memiliki kadar kreatinin serum 1,88 mg/dL, kelompok P3 memiliki kadar kreatinin 2,32 mg/dL dan kelompok P4 memiliki kadar kreatinin 2,66 mg/dL. Kadar kreatinin yang didapatkan dari penelitian ini sudah mengalami peningkatan dari nilai kreatinin normal mencit yaitu 0,2 mg/dL- 0,9 mg/dL. Kadar kreatinin serum mengalami peningkatan merupakan salah satu parameter kerusakan fungsi ginjal (Arifin, 2018).

**Tabel V. Kadar kreatinin serum darah mencit**

Kelompok	Kadar Kreatinin(mg/dL) ± SEM	Nilai Rujukan
K-	0.31 ± 0.01	0.2 mg/dL-0.9 mg/dL
P1	1.20 ± 0.09	
P2	1.88 ± 0.08	
P3	2.32 ± 0.09	
P4	2.66 ± 0.08	

Ket: K- =Na CMC 0,5%; P1= Ekstrak etanol daun bulian 250 mg/kgBB; P2= Ekstrak etanol daun bulian 500 mg/kgBB; P3= Ekstrak etanol daun bulian 1.000 mg/kgBB;P4= Ekstrak etanol daun bulian 2.000 mg/kgBB. SEM = Standar Error of Mean.

Hasil uji normalitas dan homogenitas varian data kadar kreatinin serum menghasilkan nilai sig >0,05 maka dari itu dilakukan uji Anova. Hasil uji Anova pada kadar kreatinin memberikan nilai sig <0,05 yang berarti terdapat perbedaan bermakna antara hewan uji kelompok uji dan kelompok kontrol. Nilai signifikan dari uji Anova sig<0,05 sehingga H<sub>0</sub> ditolak, yang berarti ekstrak etanol daun *E. zwageri* menunjukkan adanya tanda-tanda toksisitas jika dilihat dari peningkatan nilai kreatinin serum darah mencit.

### Histologi Ginjal

Hasil penelitian pada Tabel VI menunjukkan terdapat rata-rata skor yang berbeda diantara kelompok perlakuan dan kontrol yang dilihat dari kerusakan sel tubulus proksimal ginjal. Kelompok kontrol menggunakan Na-CMC 0,5%, juga memiliki gambaran inti piknosis, karioreksi bahkan kariolisis. Terjadinya hal ini dikarenakan seluruh sel normal secara fisiologis mengalami proses yang disebut apoptosis (Mitchell dan Cotran, 2007). Kelompok P1 menunjukkan hasil

pemeriksaan histologi sel ginjal mencit dengan rata-rata skor 57,5 yang tergolong ke dalam kategori skor 2 yang berarti sel ginjal mengalami kerusakan sedang. Kelompok P2, P3 dan P4 menunjukkan hasil pemeriksaan histologi sel ginjal dengan rata-rata 71,8, 80,8 dan 93,5 yang tergolong ke dalam kategori skor 3 yang berarti sel ginjal mengalami kerusakan tinggi.

**Tabel VI. Skor tingkat kerusakan ginjal mencit**

Kelompok	Derajat Kerusakan Ginjal $\pm$ SEM	Skor
K-	8.86 $\pm$ 1.797 <sup>a</sup>	1
P1	57.6 $\pm$ 5.196 <sup>b</sup>	2
P2	71.8 $\pm$ 1.708 <sup>c</sup>	3
P3	80.8 $\pm$ 1.156 <sup>c</sup>	3
P4	93.5 $\pm$ 5.677 <sup>d</sup>	3

Keterangan:

K- = Kontrol Negatif

P1 = Perlakuan dosis 250 mg/kgBB

P2 = Perlakuan dosis 500 mg/kgBB

P3 = Perlakuan dosis 1.000 mg/kgBB

P4 = Perlakuan dosis 2.0000 mg/kgBB

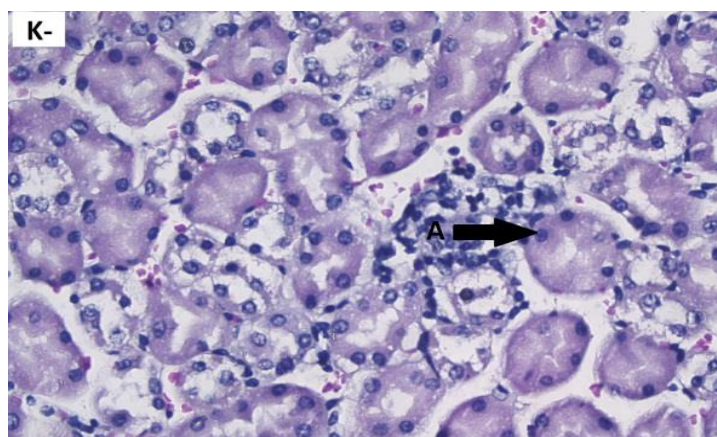
Skor 0 = Normal

Skor 1 = Kerusakan rendah (<50%)

Skor 2 = Kerusakan sedang(51-70%)

Skor 3 = Kerusakan tinggi(71-100%)

Gambar 1 memperlihatkan sel tubulus ginjal mencit kelompok kontrol yang diberi perlakuan Na-CMC 0,5% masih banyak terlihat sel-sel tubulus normal. Namun pada kelompok kontrol ini sudah terdapat beberapa kerusakan dikarenakan secara fisiologi sel mengalami proses apoptosis (Purwaningsih, 2014).

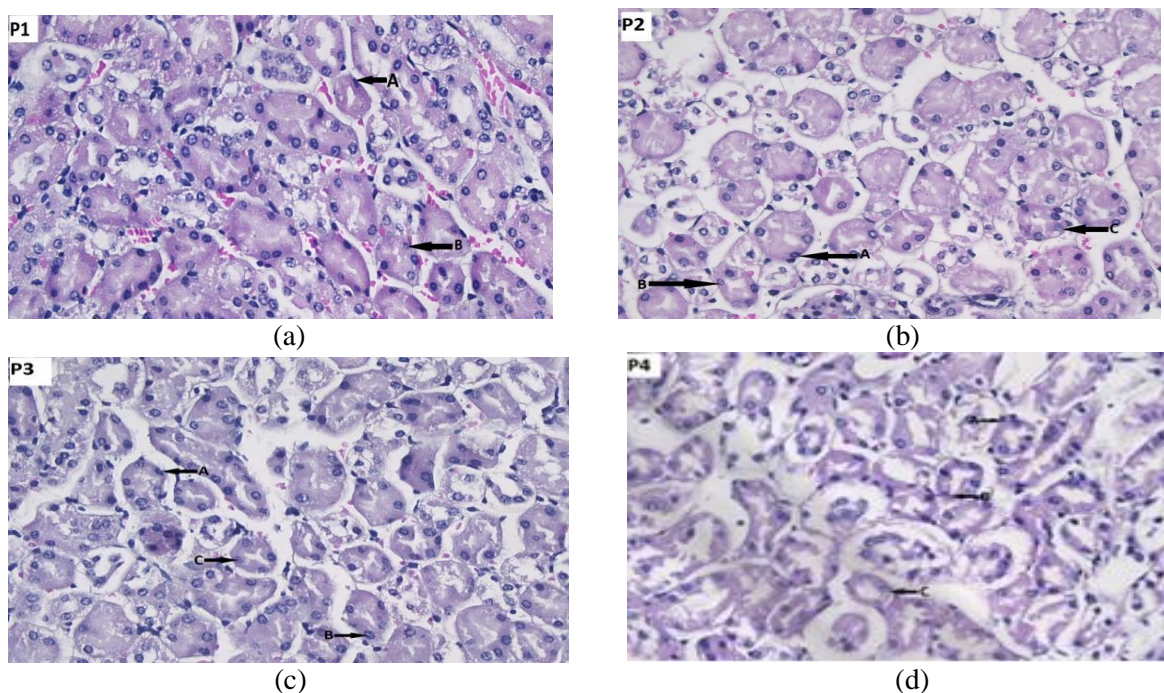


**Gambar 1. Gambaran histologi ginjal (perbesaran 400x dengan pewarnaan HE). Ket: A. sel tubulus normal**

Gambar 2 menunjukkan kelompok perlakuan yang diberikan ekstrak etanol daun *E. zwageri* diantaranya kelompok P1 dengan dosis 250 mg/kgBB, kelompok P2 dengan dosis 500 mg/kgBB, kelompok P3 dengan dosis 1.000 mg/kgBB, dan kelompok P4 dengan dosis 2.000 mg/kgBB, terlihat pada gambaran histologi ginjal mencit sudah mengalami nekrosis yang ditandai dengan perubahan nuklear (inti sel) melalui tiga tahapan yaitu piknosis, karioreksis dan kariolisis.

Piknosis ditandai dengan inti sel mengalami penyusutan, memiliki batas yang tidak beraturan, terjadi pengumpulan dan berwarna gelap (Fahmi dkk., 2015). Karioreksis ditandai dengan inti sel hancur meninggalkan pecahan-pecahan zat kromatin yang tersebar di dalam sel (Maulana dkk., 2018). Kariolisis ditandai dengan inti sel yang memudar atau inti tidak lagi berwarna jelas (pucat)(Susilowati dkk., 2016).





**Gambar 2. Gambaran histologi ginjal kelompok perlakuan (a) P1 dosis 250 mg/kgBB (b) P2 dosis 500 mg/kgBB (c) P3 dosis 1.000 mg/kgBB (d) P4 dosis 2.000 mg/kgBB Keterangan A.Piknosis,B.Karioreksis dan C. Kariolisis**

Perlakuan berupa pemberian ekstrak etanol daun *E. zwageri* memberikan gambaran nekrosis pada sel menciit. Tahapan nekrosis yang terjadi sudah sampai ke tahapan tertinggi yaitu kariolisis sehingga dapat mempengaruhi fungsi fisiologis organ ginjal menciit ditandai dengan kadar kreatinin serum darah menciit di atas normal. Selain itu kerusakan sel yang terjadi juga dimungkinkan akibat pemberian pakan yang kurang bervariasi dan pengaruh penyakit penyerta lain serta kekuatan tubuh hewan uji yang merupakan faktor internal yang juga merupakan faktor pendukung terjadinya kerusakan sel ginjal menciit.

### KESIMPULAN

Ekstrak etanol daun *E. zwageri* sampai dosis 2.000 mg/kgBB tidak menunjukkan adanya kematian terhadap hewan uji sehingga nilai  $LD_{50}$  semu yaitu  $>2.000$  mg/kgBB dan termasuk dalam rentang toksisitas sedang. Selanjutnya ekstrak etanol daun *E. zwageri* pada dosis 250, 500, 1.000 dan 2.000 mg/kgBB dapat meningkatkan kadar kreatinin serum darah menciit di atas normal serta berpengaruh secara nyata terhadap gambaran histologi ginjal menciit.

### UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih penulis ucapkan kepada laboran laboratorium di Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan serta pihak perpustakaan yang telah membantu dalam penyediaan literatur.

### DAFTAR PUSTAKA

- Afrida, 2014, Isolasi Senyawa Alkaloid Pendahuluan Bulian (*Eusideroxylon zwageri*), *Journal of The Indonesian Society of Integrated Chemistry*, 6, 20–24.
- Arifin, H., 2018, Kajian Efek Analgetik dan Toksisitas Subakut Dari Ekstrak Etanol Daun Kitolod (*Isotoma longiflora* L.) Pada Menciit Putih Jantan, *Jurnal Sains Farmasi & Klinis*, 5 (2).
- BPOM, 2014, Peraturan Kepala Badan Pengawas Obat Dan Makanan Republik Indonesia Nomor 7 Tahun 2014 Tentang Pedoman Uji Toksisitas Nonklinis Secara In Vivo, Badan Pengawas Obat dan Makanan, Jakarta



- Daulay, A., 2013, Dinamika Pemanfaatan Hutan oleh Suku Anak Dalam Bathin IX di Dusun Senami Kabupaten Batanghari, *Jurnal Bina Praja*, 05(01), 35–42.
- Efriyendi, R., Rinidar, dan T.R., 2017, Uji Toksisitas Akut Konsentrasi Ekstrak Air Daun Sernai (*Wedelia biflora*) yang diberikan Per Oral pada Mencit (*Mus musculus*), *Jimvet*, 01(3), 540–546.
- Fahmi, M., Fahrimal, Y., Aliza, D., Budiman, H., Aisyah, S., dan Hambal, M., 2015, Gambaran Histopatologis Hati Tikus (*Rattus norvegicus*) Yang Diinfeksi Trypanosoma Evansi Setelah Pemberian Ekstrak Kulit Batang Jaloh (*Salix tetrasperma* Roxb), *Jurnal Medika Veterinaria*, 9(2), 141–145.
- Febrianasar, N., Wijayanti, R., Apriadi, A., 2016, Uji Stimulansia Ekstrak Kulit Umbi Bawang (*Allium sativum* L) pada Mencit Galur Swiss/Stimulantia Test of Garlic Bulb (*Allium sativum* L.) Extract on Swiss Webster Mice, *Jurnal Farmasi Sains dan Praktis*, I(2), 42–49
- Khairunnisa, 2017, Karakterisasi Ekstrak Etanol Daun Ulin (*Eusideroxylon zwageri* Teijsm & Binned.), Akademi Farmasi Samarinda.
- Lu, F.C., 1995, Toksikologi Dasar, Asas, Organ Sasaran dan Penilaian Resiko, edisi II, *Universitas Indonesia press, Jakarta*
- Mariani, Y., Yusro, F., Wardenaar, E., 2020, Aktivitas Ekstrak Metanol Daun Ulin (*Eusideroxylon zwageri* Teijsm & Binn) Terhadap Empat Jenis Bakteri Patogen, *Jurnal Biologi Tropis*, 20(1).
- Maulana, A.M., Perdana, A.G., Soesilowati, R., Romdhoni, M.H., Putra, R.A.N., 2018, Pengaruh Aspartam terhadap Struktur Histologi Hepar Tikus (*Rattus norvegicus*) Jantan Galur Wistar Model Diabetes Melitus, *Ibnu Sina Biomedika*, 2(1).
- Muhaimin, S., Harizon, M.S., Syamsurizal, Afrida, 2016, Aktivitas Antijamur Eusiderin A (*Eusideroxylon zwageri*) Terhadap *Rhizoctonia solani* dan *Gliocladium fimbriatum*, 22–24.
- Pradono, J. Sampurno O.D., Halim., Widowati L, Manningsih dan Handayani., 2019 *Bunga Rampai Uji Klinik*. Lembaga Penerbit Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan.
- Purwaningsih, E., 2014, Pemendekan Telomer dan Apoptosis Telomere Shortening And Apoptosis, *Jurnal Kedokteran Yarsi*, 22(2), 132–141.
- Sandra, I., 2021, Uji Aktivitas Antidiabetes Ekstrak Etanol Daun Bulian (*Eusideroxylon zwageri*) pada Mencit Putih (*Mus musculus* Linn) Jantan Yang Diinduksi dengan Aloksan, *Skripsi*.
- Sasmito, W.A., Wijayanti A.D, Fitriana I, Sari, P.W. 2015, Pengujian Toksisitas Akut Obat Herbal Pada Mencit Berdasarkan Organization for Economic Co-operation and Development (OECD), *Indonesian Journal of Veterinary Science*, 33(2), 234–239.
- Sulastra, C.S., Khaerati, K.K.K., Ihwan., 2020, Toksisitas Akut Dan Lethal Dosis (LD<sub>50</sub>) Ekstrak Etanol Uwi Banggai Ungu (*Dioscorea alata* L.) Pada Tikus Putih (*Rattus norvegicus*), *Jurnal Ilmiah Medicamento*, 6(1), 10–14.
- Suryani, H., Kasmawati, Ruslin., G.Y.P., Wardana., V., Aspadiah, 2020, Kajian in Vitro Khasiat Ekstrak Etanol Dari Minuman Teh Lansau Khas Suku Muna, 5(3), 2967–2982.
- Susilowati, S., Hardijanto, Triana, I.N., 2016, Protein Kasar Plasma Seminalis Sapi Menurunkan Kejadian Nekrosis Spermatozoa Kambing Yang Disimpan Pada Suhu Dingin, *Jurnal Veteriner*, 17(1), 57–63.
- Widodo, I.P., 2018, Pengaruh Pemberian High Temperature Roasted Kopi Liberika (*Coffea liberica*) Terhadap Fisiologi dan Histologi Ginjal Mencit Putih Jantan (*Mus musculus* L.), *Skripsi*.