

Gambaran Histopatologi Organ Jantung Tikus Putih Jantan Galur Wistar (*Rattus norvegicus*) dalam Uji Toksisitas Akut Kombinasi Ekstrak Daun Jati Belanda (*Guazuma ulmifolia* Lmk.) dan Kelopak Bunga Rosella (*Hibiscus sabdariffa* L.)
(*Cardiac Histopathology of Male Wistar Rats (*Rattus norvegicus*) in Acute Toxicity of Jati Belanda Leaves (*Guazuma ulmifolia* Lmk.) and Roselle Petals (*Hibiscus sabdariffa* L.) Extract Combination*)

Novia Hilma, Nuri, Endah Puspitasari, Indah Yulia Ningsih
Fakultas Farmasi, Universitas Jember
Jln. Kalimantan 37, Jember 68121
e-mail korespondensi: nuri.farmasi@unej.ac.id

Abstract

*Jati belanda leaves (*Guazuma ulmifolia* Lmk.) and Roselle petals (*Hibiscus sabdariffa* L.) have been known for their activity as antihyperlipidemia with different mechanisms. Combination of these plants was expected to has a synergy effect in reducing cholesterol. However, the toxicity of jati belanda leaves and roselle petals extract combination must be investigated for knowing its safety. Based on the acute toxicity test, the LD₅₀ value of jati belanda leaves and roselle petals extract combination was >5,000 mg/kg bw. It was classified as category 5 or unclassified. This research aimed to study about its effect in cardiac by cardiac histopathology examinations of the rats. The result showed that there was no cardiac histopathology changes of the rats at doses 5,000 mg/kg bw.*

Keywords: *jati belanda leaves, roselle petals, acute toxicity, cardiac histopathology*

Abstrak

Daun jati belanda (*Guazuma ulmifolia* Lmk.) dan kelopak bunga rosella (*Hibiscus sabdariffa* L.) telah diketahui memiliki aktivitas sebagai antihiperlipidemia dengan mekanisme kerja yang berbeda. Kombinasi dari kedua tumbuhan ini diharapkan memiliki efek sinergis dalam menurunkan kolesterol. Akan tetapi, perlu diketahui toksisitas dari kombinasi ekstrak daun jati belanda dan kelopak bunga rosella untuk mengetahui keamanannya. Berdasarkan hasil uji toksisitas akut kombinasi ekstrak daun jati belanda dan kelopak bunga rosella diketahui memiliki nilai LD₅₀ >5.000 mg/kg BB. Nilai tersebut dikategorikan sebagai kategori 5 atau tidak terklasifikasikan. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui efeknya terhadap organ jantung melalui pemeriksaan histopatologi organ jantung tikus putih jantan. Hasil penelitian ini menunjukkan tidak ada perubahan histopatologi yang terjadi pada organ jantung tikus putih jantan pada kelompok dosis 5.000 mg/kg BB.

Kata kunci: daun jati belanda, kelopak bunga rosella, toksisitas akut, histopatologi jantung

Pendahuluan

Hiperlipidemia atau sering disebut hiperkolesterolemia adalah kenaikan kadar lipid dan kolesterol di dalam darah. Hiperkolesterolemia merupakan faktor risiko utama untuk penyakit kardiovaskular dan dapat menyebabkan aterosklerosis [1]. Aterosklerosis merupakan penyakit yang mengenai intima arteri elastik yang menimbulkan penebalan dan kekakuan pada arteri serta dapat menyebabkan penyakit jantung koroner [2]. Saat ini, penyakit kardiovaskular merupakan penyebab kematian utama di berbagai negara maju, dan terlihat ada kecenderungan peningkatan di negara berkembang [3]. Pada tahun 2008 diperkirakan sebanyak 17,3 juta kematian di dunia disebabkan oleh penyakit kardiovaskuler dan diperkirakan akan terus meningkat mencapai 23,3 juta kematian pada tahun 2030 [4].

Daun jati belanda (*Guazuma ulmifolia* Lmk.) dari familia Sterculiaceae dan kelopak bunga rosella (*Hibiscus sabdariffa* L.) dari familia Malvaceae [5] telah diketahui memiliki aktivitas sebagai antihiperlipidemia dengan mekanisme kerja yang berbeda. Daun jati belanda diketahui memiliki kandungan flavonoid yang mampu menghambat HMG CoA reduktase [6] dan kelopak bunga rosella diketahui memiliki aktivitas sebagai inhibitor lipase pankreas yaitu menurunkan penyerapan dan pencernaan lipid makanan [7]. Kombinasi ekstrak daun jati belanda dan kelopak bunga rosella diharapkan dapat menimbulkan efek sinergis dalam menurunkan kolesterol. Namun, perlu diketahui toksisitas dari kombinasi tersebut sehingga dapat diketahui potensi ketoksikan akut kombinasi ekstrak daun jati belanda dan kelopak bunga rosella.

Metode uji toksisitas yang digunakan adalah OECD (*Organization for Economic Cooperation and Development*) 423 yaitu suatu metode untuk pengujian toksisitas akut oral yang merupakan alternatif dari metode OECD 401. Prinsip dari metode ini adalah hewan uji yang digunakan lebih sedikit (3 hewan uji dengan jenis kelamin yang sama pada tiap tahap uji) dan menggunakan kematian hewan uji sebagai *end point* [8]. Pengamatan efek toksik yang timbul dapat dilakukan dengan melihat histopatologi organ jantung hewan uji.

Jantung merupakan organ yang berperan dalam sistem kardiovaskular. Jantung adalah organ vital di dalam tubuh. Meskipun jantung bukan organ sasaran biasa, organ ini dapat dirusak oleh berbagai jenis zat kimia. Suatu zat

toksik dapat bekerja langsung pada otot jantung atau secara tidak langsung melalui susunan saraf atau pembuluh darah. Jantung merupakan organ yang potensial dan mudah diserang oleh zat toksik dan akan memompa darah yang mungkin mengandung zat toksik. Efek toksik secara histologi yang dapat timbul pada jantung diantaranya adalah atrofi jantung dan kardiomiopati [9].

Metode Penelitian

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun jati belanda (*Guazuma ulmifolia* Lmk.) dan kelopak bunga rosella (*Hibiscus sabdariffa* L.) yang diperoleh dari kawasan konservasi Taman Nasional Meru Betiri Kabupaten Jember dan telah diidentifikasi di LIPI UPT Balai Konservasi Tumbuhan Kebun Raya Purwodadi, akuades (Aquadm Brataco), etanol 95%, CMC Na, tween (Brataco), formalin, NaH_2PO_4 , Na_2HPO_4 , kloroform (Emsure[®]), hemaktosilin, dan eosin.

Alat yang digunakan adalah seperangkat alat-alat gelas, *grinder mixer* (Orsatti Single Phase Motor), *rotary evaporator* (Laborotta 4000-efficient), oven (Memmert), panci infus, kompor gas, *freeze dryer* (Zirbus VacO 5-II-D), aluminium foil, spatula, timbangan analitik (Pioneer[™] OHAUS), alat-alat bedah (pinset, gunting, papan), kandang tikus, botol minum tikus, mortir, stamper, spuit injeksi oral 5 mL (One Med), pot plastik tempat organ, dan mikroskop cahaya (Olympus Bx53T).

Waktu penelitian adalah bulan Maret 2015 sampai dengan bulan Maret 2016. Tempat penelitian adalah di laboratorium Fitokimia, Laboratorium Farmakologi Fakultas Farmasi Universitas Jember, dan Laboratorium Patologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Gadjah Mada.

Hewan uji

Hewan uji yang digunakan adalah tikus putih jantan galur Wistar dengan umur 8-12 minggu, sehat dan memiliki berat 100-150 gram.

Ekstraksi daun jati belanda

Daun jati belanda dicuci bersih dengan air dan dikeringkan pada 50°C dalam oven, dipotong dadu kecil-kecil, dihaluskan menggunakan *grinder mixer*, kemudian serbuk kering ditimbang sejumlah yang diperlukan dan dimaserasi dengan etanol 95% selama 24 jam. Ekstrak hasil maserasi kemudian disaring dan residu dimaserasi lagi dengan etanol 95%

selama 24 jam. Ekstrak etanol diuapkan menggunakan *rotary evaporator* pada 60°C di bawah tekanan [7].

Ekstraksi kelopak bunga rosella

Kelopak bunga rosella dicuci bersih dengan air dan dikeringkan pada 50°C dalam oven, dipotong dadu kecil-kecil, dihaluskan dalam *grinder mixer*, kemudian serbuk kering ditimbang sejumlah yang diperlukan, ditambahkan air sehingga diperoleh konsentrasi simplisia 10%. Ekstraksi dilakukan dengan pemanasan dengan suhu 90°C selama 15 menit [10]. Setelah itu disaring dan dikeringkan menggunakan *freeze dryer*.

Pembuatan sediaan uji kombinasi ekstrak daun jati belanda dan kelopak bunga rosella

Pembuatan sediaan uji dibuat dengan cara menimbang ekstrak daun jati belanda dan kelopak bunga rosella dengan perbandingan berat ekstrak 1:1. Kedua ekstrak tersebut kemudian dicampur dan disuspensikan menggunakan suspensi CMC Na 0,5% dan Tween sebanyak 1% dari sediaan yang dibuat.

Uji toksisitas akut

Metode yang digunakan pada uji toksisitas akut ini adalah metode OECD 423 menggunakan tikus putih jantan galur wistar. Pengelompokan hewan uji dilakukan secara random dan dikelompokkan menjadi kelompok kontrol normal dan kelompok perlakuan yaitu tiap kelompok pemberian terdiri dari 3 ekor tikus. Sebelum dilakukan uji toksisitas, dilakukan aklimatisasi hewan uji selama 5 hari. Kelompok kontrol normal pada penelitian ini diberi suspensi CMC Na 0,5% dan tween 1% dari sediaan yang dibuat. Sedangkan kelompok perlakuan dipejankan kombinasi ekstrak daun jati belanda dan kelopak bunga rosella. Berdasarkan hasil uji toksisitas akut diketahui pada dosis 5.000 mg/kg BB tidak menimbulkan kematian hewan uji [11]. Pengamatan pada penelitian ini dilakukan selama 14 hari, dan pada hari ke-14 dilakukan pembedahan pada hewan uji kelompok dosis 5.000 mg/kg BB untuk diambil organ jantungnya dan dilakukan pemeriksaan histopatologi.

Histopatologi organ

Hewan dikorbankan menggunakan kloroform yaitu dengan cara hewan uji diletakkan dalam wadah tertutup berisi kapas yang sudah dibasahi dengan kloroform dan dilakukan dislokasi pada leher hewan uji. Organ

jantung yang diambil selanjutnya difiksasi dalam larutan *buffered neutral formalin* (BNF) 10%. Kemudian organ tersebut dikirim ke laboratorium patologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Gadjah Mada untuk dilakukan pembuatan preparat dan pemeriksaan histopatologi. Hasil pemeriksaan histopatologi organ jantung tersebut selanjutnya dianalisis secara deskriptif.

Hasil Penelitian

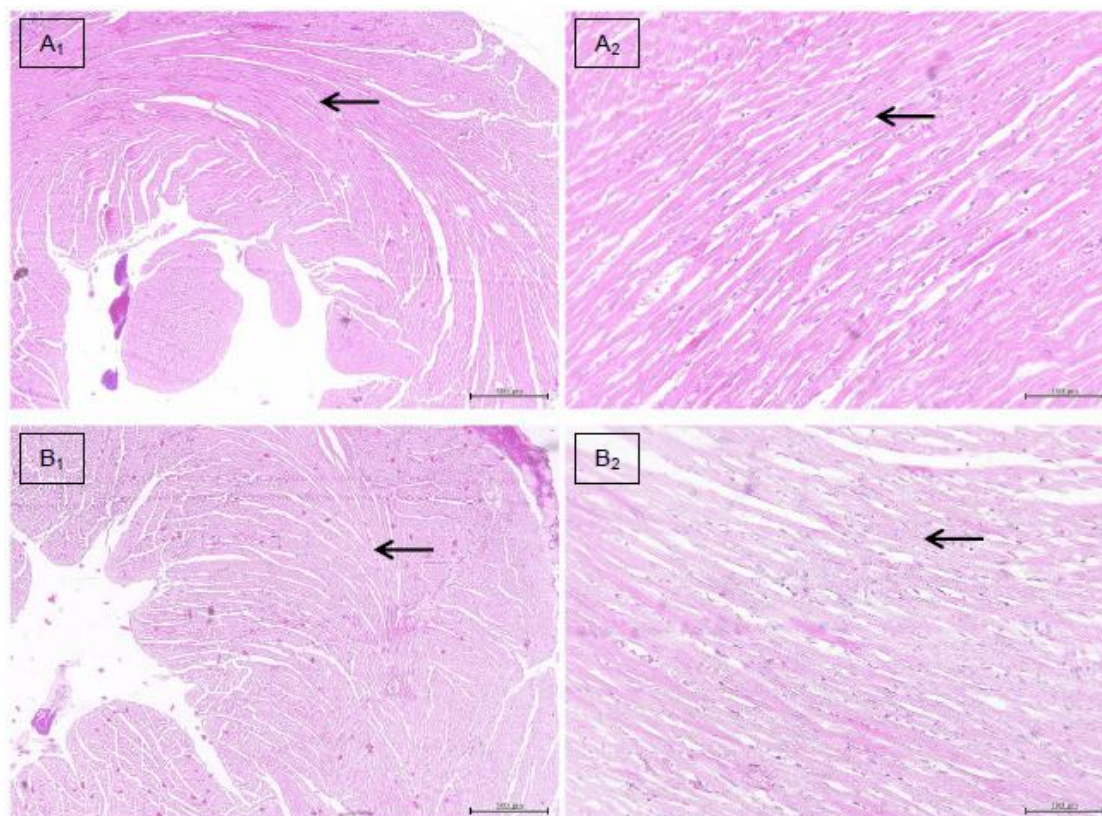
Hasil uji toksisitas akut menunjukkan nilai LD₅₀ kombinasi ekstrak etanol daun jati belanda dan ekstrak air kelopak bunga rosella adalah >5.000 mg/kg BB dan diklasifikasikan berdasarkan GHS (*Globally Harmonised Classification System*) sebagai kategori 5 atau tidak terklasifikasi [11].

Hasil pemeriksaan histopatologi organ jantung menunjukkan tidak ada perubahan histopatologi organ jantung yang terjadi pada kelompok kontrol normal dan kelompok perlakuan dosis 5.000 mg/kg BB. Gambaran histopatologi organ jantung hewan uji kelompok kontrol normal dan kelompok perlakuan dapat dilihat pada Gambar 1.

Pembahasan

Hasil uji toksisitas akut kombinasi ekstrak daun jati belanda dan kelopak bunga rosella menunjukkan bahwa tidak ada kematian hewan uji pada pemejanaan awal dosis 2.000 mg/kg BB, pengulangan dosis 2.000 mg/kg BB, dan pada pemejanaan dosis 5.000 mg/kg BB. Berdasarkan hal tersebut, dapat diketahui bahwa nilai LD₅₀ kombinasi ekstrak etanol daun jati belanda dan ekstrak air kelopak bunga rosella adalah >5.000 mg/kg BB dan diklasifikasikan berdasarkan GHS (*Globally Harmonised Classification System*) sebagai kategori 5 atau tidak terklasifikasi [11].

Hasil pemeriksaan histopatologi organ jantung pada penelitian ini menunjukkan tidak ada perubahan struktur organ jantung hewan uji yang terjadi pada seluruh hewan uji pada kelompok kontrol normal maupun kelompok perlakuan dosis 5.000 mg/kg BB. Oleh karena itu, dapat diketahui bahwa pemejanaan kombinasi ekstrak etanol daun jati belanda dan ekstrak air kelopak bunga rosella tidak mempengaruhi organ jantung. Hasil penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa konsumsi kronik 90 hari ekstrak air dan etanol kelopak bunga rosella tidak menyebabkan perubahan histologi pada organ jantung hewan uji [12] dan



Gambar 1. Gambaran histopatologi organ jantung hewan uji dengan pewarnaan hemaktosilin dan eosin. Pembesaran 40X (A1 dan B1), pembesaran 200X (A2 dan B2). A: kelompok kontrol normal, B: kelompok perlakuan dosis 5.000 mg/kg BB, : serat-serat sel otot jantung. Tidak ada perubahan histopatologi yang terjadi pada organ jantung hewan uji kelompok kontrol normal dan kelompok perlakuan dosis 5.000 mg/kg BB

belum ada data kardi toksisitas akibat pemejanan ekstrak daun jati belanda. Apabila dibandingkan dengan hasil penelitian tersebut, kombinasi ekstrak etanol daun jati belanda dan ekstrak air kelopak bunga rosella memiliki hasil gambaran histopatologi organ yang sama yaitu tidak menimbulkan perubahan histopatologi organ jantung hewan uji.

Simpulan dan Saran

Berdasarkan hasil penelitian ini, dapat disimpulkan bahwa kombinasi ekstrak daun jati belanda dan kelopak bunga rosella dalam uji toksisitas akut tidak menyebabkan perubahan histopatologi pada organ jantung. Namun, untuk menjamin keamanan penggunaan kombinasi ekstrak daun jati belanda dan kelopak bunga rosella dalam jangka waktu panjang perlu dilakukan uji toksisitas lebih lanjut yaitu uji toksisitas subkronis dan kronis.

Daftar Pustaka

- [1] Dipiro JT, Talbert RL, Yee GC, Matzke GR, Weels BG, Posey LM, Pharmacotherapy a pathophysiologic approach. 8 ed. New York: The McGraw-Hill Companies Inc; 2008.
- [2] Damjanov I. Histopatologi: buku teks dan atlas berwarna. Terjemahan oleh Brahm UP. Jakarta: Widya Medika; 2000.
- [3] Hatma RD. Sosial determinan dan faktor resiko kardiovaskular. Buletin Jendela Data dan Informasi Kesehatan. 2011; 2(2):15-21.
- [4] Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. Situasi kesehatan jantung. Jakarta Selatan; Pusat Data dan Informasi Kementerian Kesehatan Republik Indonesia; 2014.
- [5] Backer, Van BDB. Flora of Java. Groningen: NVP Noordhoff; 1965.

- [6] Havsteen BH. The Biochemistry and medical significance of the flavonoids. *Pharmacology & Therapeutic*. 2002; 96: 67-202.
- [7] Sari IP, Nurrochmad A, Setiawan IM, Indonesian herbals reduce cholesterol Levels in diet induced hypercholesterolemia through lipase inhibition. *Malay J Pharm Sci*. 2013; 1(1): 13–20.
- [8] Organization for Economic Cooperation and Development (OECD). OECD Guideline for testing of chemicals, acute oral toxicity acute toxic class method No. 423. Paris: OECD; 2001.
- [9] Lu FC. Toksikologi dasar: asas, organ sasaran, dan penilaian resiko. Terjemahan oleh Nugroho. Jakarta: UI Press; 1995.
- [10] Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Farmakope Indonesia. Edisi 4. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia; 1995.
- [11] Sari PAM. Ketoksikan akut kombinasi ekstrak kelopak bunga rosella (*Hibiscus sabdariffa* L.) dan daun jati belanda (*Guazuma ulmifolia* Lamk.) tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*). Fakultas Farmasi Universitas Jember; 2016.
- [12] Fakeye TO, Pal A, Bawankule DU, Yadav NP, Khanuja SPS. Toxic effects of oral administration of extracts of dried calyx of *Hibiscus sabdariffa* Linn. (Malvaceae). *Phytother Res*. 2008; 23(3): 412-416.