

Uji Toksisitas Akut Ekstrak Etanol Benalu Mangga (*Dendrophthoe petandra*) Terhadap Mencit Swiss Webster

Diantika L. Nurfaat, Wiwiek Indriyati

Laboratorium Farmakologi dan Toksikologi Fakultas Farmasi, Universitas Padjadjaran,
Sumedang, Jawa Barat, Indonesia

Abstrak

Benalu mangga (*Dendrophthoe petandra* L. Miq.) merupakan obat tradisional yang dapat berkembang menjadi obat herbal terstandar. Pembuktian secara ilmiah mengenai keamanannya penting untuk diketahui, salah satu caranya melalui uji toksisitas akut. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui nilai toksisitas akut (LD_{50}), tingkat keamanan ekstrak etanol herba benalu mangga, dan gejala klinis yang ditimbulkannya. Mencit dibagi dalam kelompok kontrol dan kelompok uji dengan lima variasi dosis (4, 8, 16, 32, 64 g/kg berat badan mencit) diberikan secara per oral. Hasil penelitian menggunakan metode analisis probit pada mencit jantan dan betina menunjukkan tingkat keamanan ekstrak etanol herba benalu mangga tidak toksik berdasarkan klasifikasi toksisitas Harmita dan Radji, yakni berada pada rentang dosis > 15 g/kg berat badan tikus. LD_{50} mencit jantan sebesar 34,28 g/kg berat badan atau setara dengan dosis 23,99 g/kg berat badan tikus, sedangkan pada mencit betina sebesar 22,41 g/kg berat badan atau setara dengan dosis 15,69 g/kg berat badan tikus. Hasil skrining farmakologi menunjukkan bahwa ekstrak etanol herba benalu mangga menimbulkan pengaruh pada sistem saraf pusat yaitu menurunkan efek retablismen dan gelantung pada mencit jantan, serta memberikan efek katalepsi pada mencit betina.

Kata kunci: Ekstrak etanol *Dendrophthoe pentandra* L. Miq., nilai LD_{50} , toksisitas akut

Acute Toxicity Test of Ethanol Extract of Mango Mistletoe (*Dendrophthoe petandra*) to Strain of Swiss Webster Mice

Abstract

Mango mistletoe (*Dendrophthoe petandra* L. Miq.) has been used as a traditional medicine that can be develop into standardized herbal medicine. Scientific evidence about its safety is important to know, one way through acute toxicity tests. This study aims to determine the acute toxicity values (LD_{50}), the safety level of the ethanolic extract of mango mistletoe herb, and the resulting clinical symptoms. Mice were divided into a control group and groups of tests with five variations of doses (4, 8, 16, 32, 64 g/kg body weight of mice). The results using probit analysis methods in male and female mice showed the safety level of the ethanolic extract mango mistletoe herb is nontoxic based toxicity Harmita and Radji, which is in the range of doses > 15 g/kg body weight of rat. LD_{50} for male mice were 34.28 g/kg body weight, equivalent to a dose of 23.99 g/kg body weight of rat, whereas for female mice were 22.41 g/kg body weight, equivalent to a dose of 15.69 g/kg body weight of rat. Pharmacological screening results showed that ethanolic extract of mango mistletoe herb causing effect in central nervous system: decreasing retablismen and hanging effect of male mice, and giving cataleption effect of female mice.

Keywords: Acute toxicity, ethanolic extract of *Dendrophthoe pentandra* L. Miq., LD_{50}

Pendahuluan

Pemanfaatan benalu sebagai obat tradisional sudah dikenal sejak lama untuk menyembuhkan beragam penyakit. Benalu digunakan oleh masyarakat sebagai obat antiradang, pereda sakit (analgesik), antivirus, antikanker, dll.¹ Contohnya benalu teh dan benalu mangga yang digunakan sebagai obat kanker.² Benalu mangga (*Dendrophthoe pentandra* L. Miq.) merupakan salah satu benalu yang mudah didapat di Indonesia karena wilayah Indonesia sebagian besar adalah dataran rendah dimana pohon mangga sangat cocok hidup di dataran rendah.³

Tumbuhan benalu mangga digunakan oleh masyarakat sebagai obat tradisional atau dikenal sebagai jamu perlu ditinjau kembali. Sebab menurut Badan POM terdapat beberapa obat tradisional yang tidak dipergunakan lagi untuk pengobatan karena memberikan efek yang tidak diinginkan. Selain itu, obat bahan alam dapat mengandung khasiat senyawa yang toksik.⁴

Telah diketahui bahwa kandungan kimia yang terdapat dalam benalu mangga adalah flavonoid, tanin, asam amino, karbohidrat, alkaloid, dan saponin.⁵ Penelitian lain menyebutkan bahwa benalu mangga memiliki kandungan flavonoid kuersetin, saponin dan tanin.⁶ Flavonoid merupakan senyawa golongan fenol yang pada umumnya banyak terdapat pada tumbuhan berpembuluh, termasuk benalu mangga.⁷

Dari hasil penelitian sebelumnya, ekstrak *Dendrophthoe pentandra* diketahui memiliki aktivitas antiplasmodium.⁸ Benalu mangga juga berpotensi sebagai agen anti kanker kolon.⁹ Sedangkan berdasarkan penelitian lainnya diketahui bahwa ekstrak benalu mangga dapat menurunkan kadar kolesterol dan LDL.¹⁰ Selain itu, diketahui tumbuhan benalu memiliki khasiat sebagai penghambat laju pertumbuhan penyakit kanker karena di dalamnya terkandung kuersitrin yang merupakan glikosida flavonol dimana aglikonnya adalah

kuersetin.¹¹ Penelitian tersebut sejalan dengan penelitian sebelumnya bahwa isolat flavonoid dari benalu mampu menghambat pertumbuhan kanker.¹²

Tumbuhan benalu mangga dapat berkembang menjadi obat herbal terstandar, mengingat sudah lamanya pemakaian sebagai obat tradisional dan potensinya yang cukup tinggi. Oleh karena itu, penulis tertarik untuk melakukan uji toksisitas akut ekstrak etanol herba benalu mangga sebagai tahap awal uji keamanan farmakologi. Ada pun yang mendasarinya yaitu Keputusan Kepala BPOM Republik Indonesia Nomor: HK.00.05.4.2411.Tahun 2004, mengenai keamanan mutu, dan kemanfaatan suatu produk obat bahan alam.⁴

Ketentuan mengenai keamanan mutu berkaitan dengan toksisitas suatu ekstrak tumbuhan sebelum dikembangkan menjadi suatu produk obat. Toksisitas didefinisikan sebagai kapasitas bahan untuk mencederaikan suatu organisme hidup.¹³ Pengujiannya terdiri dari toksisitas akut, subkronik, toksisitas kronik, dan toksisitas khusus.¹⁴ Uji toksisitas akut adalah pegujian dalam menetapkan potensi toksisitas akut, yaitu nilai LD₅₀ dengan mengamati gejala toksik, spektrum efek toksik, serta mekanisme kematian.¹⁵

Penelitian ini dilakukan secara *in vivo*, menggunakan hewan coba mencit Swiss Webster dengan paparan tunggal dosis bertingkat. Pengamatan meliputi jumlah hewan yang mati dan perubahan bobot badan selama 14 hari, serta berbagai gejala klinis melalui skrining farmakologi pada 0, 1/2, 1, 2, 4, dan 24 jam pertama setelah pemberian ekstrak etanol herba benalu mangga.

Metode

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah alat penyaring *beaker glass*, botol plastik, cawan, corong, gelas ukur, labu evap, neraca timbangan, oven, panci maserasi, *rotary vaporator*, sonde oral, spatel, dan kandang pemeliharaan

hewan percobaan yang terbuat dari bak plastik (panjang 31,5 cm, lebar 23,5 cm, dan tinggi 12 cm) tutupnya berupa kawat. Bahan-bahan yang digunakan meliputi bahan tumbuhan, bahan kimia, dan hewan uji. Bahan tumbuhan yang digunakan adalah simplisia herba benalu mangga, diperoleh dari Kabupaten Subang, Provinsi Jawa Barat. Bahan-bahan kimia yang digunakan adalah etanol 96% (Bratachem), air suling, PGA (*Pulvis Gummi Arabicum*) (Medilabs c.v.), kloroform (Merck), asam klorida (Bratachem) 2N, amonia (Merck), pereaksi Mayer, pereaksi Dragendorff, pereaksi Bouchardat, besi (III) klorida (Merck), larutan gelatin 1 % (Bratachem), amil alkohol (Merck), larutan vanilin 10% dalam asam sulfat pekat (Bratachem), eter (Bratachem), kalium hidroksida (Bratachem) 5% dan serbuk magnesium, etil asetat (Bratachem), asam format (Merck), pelat silika gel 60 F₂₅₄. Hewan uji yang digunakan adalah mencit putih (*Mus musculus*) galur Swiss Webster yang diperoleh dari Institut Teknologi Bandung, Bandung. Mencit sebanyak 70 ekor digunakan untuk orientasi dosis, pengujian, dan sebagai kontrol. Jumlah mencit untuk orientasi dosis sebanyak 5 ekor betina dan 5 ekor jantan. Jumlah mencit untuk pengujian sebanyak 25 ekor jantan dan 25 ekor betina. Sedangkan jumlah mencit sebagai kontrol sebanyak 5 ekor betina dan 5 ekor jantan. Perlakuan sebanyak 5 dosis maka kelompok pengujian sebanyak 5 dan setiap kelompok pengujian terdiri dari 5 ekor berdasarkan rumus Frederer yang telah dilebihkan 1 ekor. Berat badan mencit antara 20-35 g.

Tahapan penelitian meliputi determinasi simplisia, pembuatan ekstrak etanol herba benalu mangga yang selanjutnya disebut ekstrak benalu mangga, penapisan fitokimia ekstrak benalu mangga, pengujian parameter ekstrak kental herba benalu mangga meliputi kadar air serta pemeriksaan profil Kromatografi Lapis Tipis (KLT) ekstrak cair herba benalu mangga; persiapan hewan uji dan pembuatan sediaan uji; pengujian toksisitas akut dan skrining farmakologi.

Determinasi simplisia benalu mangga dilakukan di Herbarium Jatinangor, Laboratorium Taksonomi Tumbuhan, Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Padjadjaran.

Pembuatan ekstrak herba benalu mangga dilakukan dengan metode maserasi. Simplisia herba benalu mangga yang sudah kering dilarutkan kedalam pelarut. Pelarut yang digunakan adalah etanol 96%. Perbandingan simplisia dengan pelarut adalah 1:7. Proses ini dilakukan dengan perendaman simplisia benalu mangga selama 3 x 24 jam dalam maserator dengan penggantian pelarut setiap 24 jam. Kemudian larutan tersebut disaring dan dipekatkan menggunakan *rotary vaporator*.

Pemeriksaan penapisan fitokimia yang dilakukan terhadap ekstrak kental herba benalu mangga yaitu alkaloid, polifenol, tanin, steroid, triterpenoid, kuinon, saponin, flavonoid, monoterpenoid dan sekuiterpenoid.

Penetapan kadar air dilakukan dengan cara destilasi. Zat ditimbang seksama yang diperkirakan mengandung 2 ml hingga 4 ml air, ditambah batu didih dan toluen 200 ml ke dalam labu kering, kemudian alat destilasi dihubungkan. Labu dipanaskan selama 15 menit. Penyulingan dilakukan dengan kecepatan 2 - 4 tetes tiap detik sampai semua air tersuling. Tabung penerima dibiarkan mendingin hingga suhu kamar dan tetes air yang melekat pada pendingin tabung penerima dibiarkan turun. Volume air dalam toluen dibaca setelah keduanya memisah sempurna. Kadar air dihitung dalam v/b.¹⁶

Pola Kromatografi Lapis Tipis (KLT) diamati dengan fase gerak yang digunakan adalah butanol, asam asetat, air dengan perbandingan 4 : 1 : 5, dan fase diam yang digunakan adalah silika gel 60 F₂₅₄. Pengamatan dilakukan pada sinar tampak, UV 254 nm, UV 366 nm. Sedangkan pemeriksaan kuersitrin dengan KLT digunakan fase gerak yang terdiri dari: etil asetat, asam format, asam asetat

glasial, air dengan perbandingan 100 : 11 : 11 : 26, fase diam adalah silica gel 60 F₂₅₄. Volume pentotolan 5 µL untuk larutan uji. Pengamatan pada UV 365 nm.¹⁷

Selanjutnya persiapan hewan uji dilakukan dengan aklimatisasi pada mencit selama 1 minggu sebelum pengujian toksisitas akut, dengan pemberian makan dan minum secukupnya (*ad libitum*) setiap hari, dan pembersihan kandang dilakukan dua kali seminggu secara rutin. Berat badan mencit diamati, bila selama waktu tersebut berat badan mencit mengalami penurunan, waktu adaptasi diperpanjang hingga mencit siap diberikan intervensi (sediaan uji).

Pembuatan sediaan uji dari ekstrak kental herba benalu mangga masing-masing sebanyak 4, 8, 16, 32, dan 64 g/kg berat badan mencit ditimbang. Kemudian dibuat suspensi dengan menggunakan PGA 2%, masing-masing sediaan dibuat sebanyak 10 ml. Setiap sediaan diberi keterangan berupa label.

Pengujian toksisitas akut terdiri dari tahapan orientasi dosis, pengujian toksisitas akut (LD₅₀), dan skrining farmakologi pada mencit. Orientasi dosis dilakukan untuk memperoleh informasi awal toksisitas ekstrak benalu mangga. Berdasarkan penelitian sebelumnya menyatakan bahwa benalu mangga memiliki nilai LD₅₀ semu 16,0962 g/kg berat badan terhadap mencit.⁵ Dosis tersebut yang mendasari dosis ekstrak benalu mangga yang diberikan secara oral yaitu 16 g/kg berat badan.

Pada tahapan orientasi dosis digunakan 5 ekor mencit jantan dan 5 ekor mencit betina. Pengamatan mencit dilakukan selama 24 jam setelah diberikan sediaan uji. Pada pengujian LD₅₀ digunakan dosis tengah 16 g/kg berat badan bila setelah 24 jam tidak ada hewan yang mati.

Pengujian LD₅₀ diawali dengan pembagian kelompok mencit jantan dan mencit betina sebanyak 25 ekor mencit dibagi menjadi 5 kelompok perlakuan. Berdasarkan rumus Frederer, dengan $t = 5$ (artinya kelompok uji sebanyak 5

kelompok) dimasukkan ke persamaan $(n-1)(t-1) \geq 15$, maka jumlah hewan uji minimal setiap kelompok sebanyak 4 ekor. Masing-masing kelompok dilebihkan satu ekor dari jumlah minimal hewan uji, menjadi 5 ekor. Selain itu, terdapat kelompok kontrol baik untuk jantan maupun betina, jumlahnya masing-masing 5 ekor. Setelah diberikan perlakuan sesuai kelompoknya, setiap hari dilakukan pengamatan terhadap perubahan berat badan dan jumlah kematian mencit selama 14 hari. Perlakuan masing-masing kelompok yakni diberikan ekstrak benalu mangga dengan dosis sebagai berikut:

Kelompok I : diberikan larutan PGA 2% dalam air.

Kelompok II : 4 g/kg berat badan mencit.

Kelompok III : 8 g/kg berat badan mencit.

Kelompok IV : 16 g/kg berat badan mencit.

Kelompok V : 32 g/kg berat badan mencit.

Kelompok VI : 64 g/kg berat badan mencit.

Pengaruh gejala toksik ekstrak benalu mangga (*Dendrophthoe pentandra* L. Miq.) pada mencit galur Swiss-Webster (skrining farmakologi) diamati meliputi efek pada sistem saraf pusat yaitu efek motorik, gelantung, retablismen, katalepsi, sedatif, tremor, konvulsi, straub, fleksi, hafner, pineal, dan pernafasan; dan efek pada sistem saraf otonom, yaitu efek piloereksi, salivasi, lakrimasi, urinasi abnormal, dan diare. Pengamatan tersebut dilakukan pada jam ke nol sebelum diberikan zat uji, kemudian setiap ½ jam, 1 jam, 2 jam, 4 jam, dan 24 jam setelah diberikan zat uji.

Kemudian perhitungan nilai LD₅₀ menggunakan metode "*The normal population assumption*" (analisis probit). Pada metode ini mengharuskan pemberian dosis yang dinilai perbandingannya ekuivalen secara logaritmik.¹⁸ Langkah awal persentase kematian mencit jantan dan betina dikonversi ke dalam bentuk probit. Berikutnya konsentrasi dalam satuan gram dikonversi ke dalam bentuk log. Grafik dibuat menggunakan *software Microsoft Excel* dengan probit sebagai sumbu Y dan bentuk log dari konsentrasi dosis sebagai sumbu X. Terakhir

penentuan persamaan garis linear dan nilai anti log X pada Y probit 5 ditentukan untuk mendapatkan nilai LD50. Sedangkan data hasil skrining farmakologi dianalisis secara statistika menggunakan aplikasi IBM SPSS *Statistics version 20*.

Hasil

Simplisia yang digunakan dalam penelitian adalah tumbuhan benalu mangga dibuktikan dengan hasil determinasi tumbuhan benalu mangga (*Dendrophthoe petandra* L. Miq.). Proses ekstraksi herba benalu mangga (*Dendrophthoe petandra* L. Miq.) dengan pelarut etanol 96% menghasilkan rendemen sebanyak 180 gram (6%). Hasil penapisan fitokimia ekstrak benalu mangga terlampir pada Tabel 1. Hasil penetapan kadar air ekstrak benalu mangga terlampir pada Tabel 2. Hasil kromatografi ekstrak benalu mangga terlampir pada Tabel 3 dan Tabel 4. Hasil pengujian toksistas akut ekstrak benalu mangga diperoleh persentase kematian kumulatif mencit jantan dan betina, masing masing terlampir pada Tabel 5, Gambar 1 dan Tabel 6, Gambar 2. Analisis probit pada mencit jantan dan betina menghasilkan LD50 masing-masing sebesar 34,28 g/kg berat badan dan 22,41 g/kg berat badan. Grafik analisis probit pada mencit jantan dan betina masing-masing terlampir pada Gambar 3 dan Gambar 4. Sedangkan rata-rata berat badan mencit jantan dan betina

masing-masing dapat dilihat pada Gambar 5 dan Gambar 6. Hasil skrining farmakologi menunjukkan bahwa ekstrak benalu mangga berpengaruh pada sistem saraf pusat yaitu menurunkan efek retablismen dan gelantung pada mencit jantan, serta memberikan efek katalepsi pada mencit betina. Sedangkan pada parameter lain tidak menunjukkan adanya ketidaknormalan gejala klinis.

Pembahasan

Metode ekstraksi yang digunakan adalah maserasi, menggunakan pelarut etanol 96%. Penggunaan etanol sebagai cairan penyari karena etanol 96% dapat menarik sebagian besar metabolit sekunder dan relatif lebih aman dibandingkan cairan penyari lainnya.

Sedangkan konsentrasi etanol yang digunakan 96% karena simplisia yang digunakan adalah tumbuhan kering yang telah disimpan sehingga telah sedikit menyerap air dari udara.

Maserat yang diperoleh adalah ekstrak cair yang dikentalkan dengan menggunakan rotatory vaporator hingga didapatkan ekstrak yang tidak lagi mengandung pelarut etanol.

Tabel 1 menunjukkan bahwa ekstrak benalu mangga mengandung metabolit sekunder polifenol, tanin, flavonoid, steroid, triterpenoid, monoterpenoid dan seskuiterpenoid, serta kuinon. Hasil negatif pada pengujian metabolit alkaloid

Tabel 1 Hasil Penapisan Fitokimia Terhadap Ekstrak Benalu Mangga

Golongan Senyawa Kimia	Hasil Pengujian
Alkaloid	-
Polifenol	+
Tanin	+
Flavonoid	+
Steroid	+
Triterpenoid	+
Monoterpenoid dan seskuiterpenoid	+
Kuinon	+
Saponin	-

Keterangan: (+) : Terdeteksi; (-) : Tidak terdeteksi

Tabel 2 Hasil Penetapan Kadar Air Ekstrak Benalu Mangga

Sampel	Berat Sampel (g)	Volume Air (ml)	Kadar Air (%)
Ekstrak I	2,02	0,05	2,75
Ekstrak II	2,02	0,05	2,75

Rata-rata kadar air = 2,75 %

dan saponin. Hal ini bertentangan dengan kandungan benalu mangga yang diteliti sebelumnya bahwa benalu mangga mengandung senyawa alkaloid dan saponin.⁵ Hal ini dapat terjadi karena perbedaan sumber simplisia yang digunakan dalam penelitian.

Penetapan kadar air telah dilakukan dua kali (duplo), dan berikut adalah hasil penetapannya dapat dilihat pada Tabel 2.

Penetapan kadar air bertujuan untuk mengetahui kualitas ekstrak yang digunakan atas kandungan air yang dikandungnya. Hal ini dikarenakan air merupakan media tumbuh dan berkembangnya jamur. Nilai batas persyaratan untuk kadar air secara umum dipersyaratkan oleh Kep.Menkes. RI No: 661/Menkes/SK/VII/1994 dimana kadar air tidak boleh melebihi batas 10%.¹⁹ Kadar air ekstrak yang lebih dari 10% dapat meningkatkan risiko tumbuhnya jamur pada ekstrak. Berdasarkan Tabel 2 didapatkan kadar air yang terkandung di dalam ekstrak benalu mangga yaitu 2,75% sehingga dapat diketahui ekstrak cukup aman dari kontaminasi jamur selama penyimpanan.

Metode kromatografi lapis tipis

bertujuan dalam mengidentifikasi senyawa kimia yang terkandung dalam ekstrak benalu mangga secara kualitatif.

Hasil kromatografi lapis tipis dengan menggunakan pengembang butanol, asam asetat, air (4:1:5) menunjukkan bahwa ekstrak etanol benalu mangga memiliki delapan bercak. Pengamatan no bercak 6 adalah kuning pada sinar UV 254 nm dan ungu pada sinar UV 366 nm, dengan nilai Rf 0,775 menunjukkan keberadaan senyawa flavonoid. Bercak lainnya tidak teridentifikasi, karena pengembang butanol, asam asetat, air (4:1:5) untuk mengidentifikasi flavonoid dan melihat pemisahan zat kimia yang terkandung di dalam ekstrak benalu mangga berdasarkan kepolaran zat.

Hasil kromatografi lapis tipis dengan menggunakan pengembang etil asetat, asam format, asam asetat glasial, air (100:11:11:26) menunjukkan bahwa ekstrak etanol benalu mangga memiliki lima bercak. Pengamatan no bercak 1 adalah ungu tua pada sinar UV 254 nm dan sinar UV 366 nm, dengan nilai Rf 0,581 menunjukkan keberadaan senyawa kuersitrin. Bercak

Tabel 3 Hasil Kromatografi Ekstrak Benalu Mangga dengan Fase Gerak Butanol, Asam Asetat, Air (4:1:5)

Sampel	No bercak	Harga Rf	Sinar Tampak	Sinar UV 254 nm	Sinar UV 366 nm
Ekstrak etanol	1	0,125	Coklat pudar	Coklat	-
	2	0,225	-	Coklat	-
	3	0,550	-	Coklat	-
	4	0,663	-	Kuning pudar	-
	5	0,713	-	Kuning	-
	6	0,775	-	Kuning	Ungu
	7	0,869	-	Kuning	-
	8	0,919	-	-	Merah

Tabel 4 Hasil Kromatografi Ekstrak Benalu Mangga dengan Fase Gerak Etil Asetat, Asam Format, Asam Asetat Glasial, Air (100:11:11:26)

Sampel	No bercak	Harga Rf	Sinar Tampak	Sinar UV 254 nm	Sinar UV 366 nm
Ekstrak etanol	1	0,581	-	Ungu tua	Ungu tua
	2	0,688	-	Ungu pudar	-
	3	0,831	-	Ungu pudar	-
	4	0,900	-	Ungu pudar	-
	5	0,938	-	Kuning	Merah

lainnya tidak teridentifikasi karena pengembang etil asetat, asam format, asam asetat glasial, air (100:11:11:26) yang digunakan adalah untuk tujuan identifikasi kuersitrin secara spesifik.

Pengujian toksisitas akut ekstrak benalu mangga, dilakukan pengamatan kematian dan berat badan mencit selama 14 hari serta perilaku mencit sebagai respon dari pemberian bahan uji dengan variansi dosis (skrining farmakologi).

Tabel 5 menunjukkan persentase kematian mencit jantan setelah pemberian suspensi ekstrak benalu mangga secara oral dengan lima variansi dosis dan satu sediaan kontrol selama 14 hari pengamatan. Pada kelompok kontrol (PGA 2%), dan dosis 1 (4 g/kg BB) tidak terjadi kematian setelah pengamatan selama 14 hari. Pada dosis 2 (8 g/kg BB) dan dosis 3 (16 g/kg BB) terjadi kematian sebanyak 20% sejak hari pengamatan pertama hingga hari pengamatan akhir. Sedangkan pada kelompok dosis 4 (32 g/kg BB) meningkat

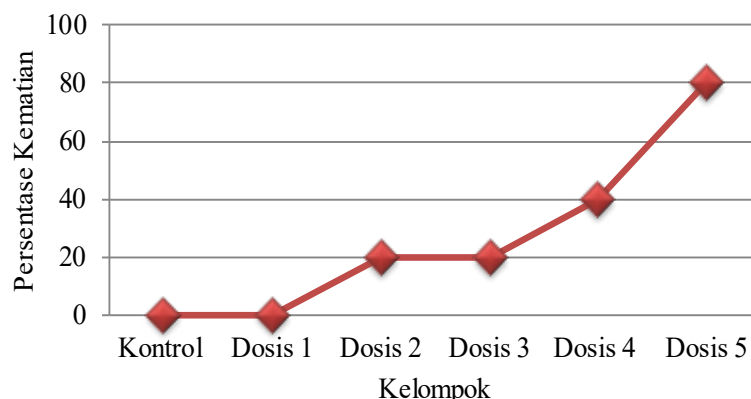
sebanyak 40% kematian sejak hari pertama pengamatan, dan pada kelompok dosis 5 (64 g/kg BB) meningkat lagi persentase kematian menjadi 80% hewan uji sampai hari pengamatan ke-14.

Tabel 6 menunjukkan persentase kematian mencit betina setelah pemberian suspensi ekstrak benalu mangga secara oral dengan lima variansi dosis dan satu sediaan kontrol selama 14 hari pengamatan. Pada kelompok kontrol (PGA 2%), dosis 1 (4 g/kg BB), dan dosis 2 (8 g/kg BB) tidak terjadi kematian setelah pengamatan selama 14 hari.

Pada dosis 3 (16 g/kg BB) terjadi kematian sebanyak 40% sejak hari pengamatan pertama hingga hari pengamatan akhir. Sedangkan pada kelompok dosis 4 (32 g/kg BB) meningkat sebanyak 60% kematian sejak hari pertama pengamatan, dan pada kelompok dosis 5 (64 g/kg BB) meningkat lagi persentase kematian menjadi 80% hewan uji sampai hari pengamatan ke-14.

Tabel 5 Persentase Kematian Kumulatif Mencit Jantan Selama 14 Hari Setelah Pemberian Ekstrak Benalu Mangga

Kelompok	Perlakuan	Jumlah Kematian Kumulatif Setelah Pemberian Dosis (%) dalam Hari													
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
Kontrol	PGA 2 %	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Dosis 1	4 g/kg BB	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Dosis 2	8 g/kg BB	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20
Dosis 3	16 g/kg BB	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20
Dosis 4	32 g/kg BB	40	40	40	40	40	40	40	40	40	40	40	40	40	40
Dosis 5	64 g/kg BB	80	80	80	80	80	80	80	80	80	80	80	80	80	80



Gambar 1 Persentase Kematian Mencit Jantan Terhadap Perlakuan

Mencit jantan dan betina memiliki jumlah kematian yang berbeda pada perlakuan dosis 16 g/kg berat badan dan 32 g/kg berat badan, lebih banyak ditemukannya kematian pada mencit betina. Diagram persentase kematian pada mencit jantan dan betina masing-masing terdapat pada Gambar 1 dan Gambar 2.

Pada perlakuan dosis 64 g/kg berat badan mencit jantan dan mencit betina menunjukkan jumlah kematian yang sama. Namun, mencit jantan memberikan respon kematian pula pada perlakuan dosis 8 g/kg berat badan sebesar 20% sedangkan mencit betina tidak. Hal tersebut kemungkinan dapat terjadi karena kondisi mencit yang tidak terkendali yakni mengalami sakit akibat faktor lain diluar pemberian perlakuan dosis, seperti daya tahan tubuh hewan uji yang menurun, bertikai dengan sesama hewan uji dalam satu kandang, dan lain-lain.

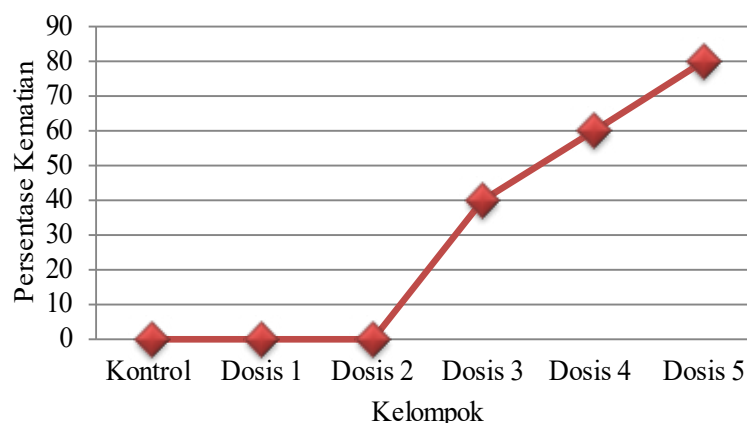
Data kematian mencit jantan dan betina menunjukkan bahwa kenaikan dosis yang diberikan pada hewan uji memberikan peningkatan persentase kematian. Selain itu seiring lama waktu pengamatan setiap jamnya pada hari pertama juga menunjukkan peningkatan persentase kematian hewan uji.

Data kematian mencit jantan dan betina pada Tabel 5 dan Tabel 6 belum dapat memperoleh hasil LD_{50} , oleh karenanya diperlukan perhitungan LD_{50} dengan menggunakan metode analisis probit. Dari data penelitian dapat diamati hubungan yang linear antara peningkatan dosis dan peningkatan persentase kematian.

Perhitungan LD_{50} dilakukan dengan menggunakan metode analisis probit dengan perhitungan manual dan grafik. Langkah awal persentase kematian mencit jantan dan betina dikonversi ke dalam bentuk probit. Berikutnya konsentrasi dalam satuan gram dikonversi ke dalam

Tabel 6 Persentase Kematian Kumulatif Mencit Betina Selama 14 Hari Setelah Pemberian Ekstrak Etanol Benalu Mangga

Kelompok	Perlakuan	Jumlah Kematian Kumulatif Setelah Pemberian Dosis (%) dalam Hari													
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
Kontrol	PGA 2 %	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Dosis 1	4 g/kg BB	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Dosis 2	8 g/kg BB	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Dosis 3	16 g/kg BB	40	40	40	40	40	40	40	40	40	40	40	40	40	40
Dosis 4	32 g/kg BB	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60
Dosis 5	64 g/kg BB	80	80	80	80	80	80	80	80	80	80	80	80	80	80



Gambar 2 Persentase Kematian Mencit betina Terhadap Perlakuan

bentuk log. Kemudian grafik tersebut dibuat menggunakan *software Microsoft Excel* dengan probit sebagai sumbu Y dan bentuk log dari konsentrasi dosis sebagai sumbu X. Terakhir penentuan persamaan garis linear dan nilai anti log X pada Y probit 5 ditentukan untuk mendapatkan nilai LD_{50} .

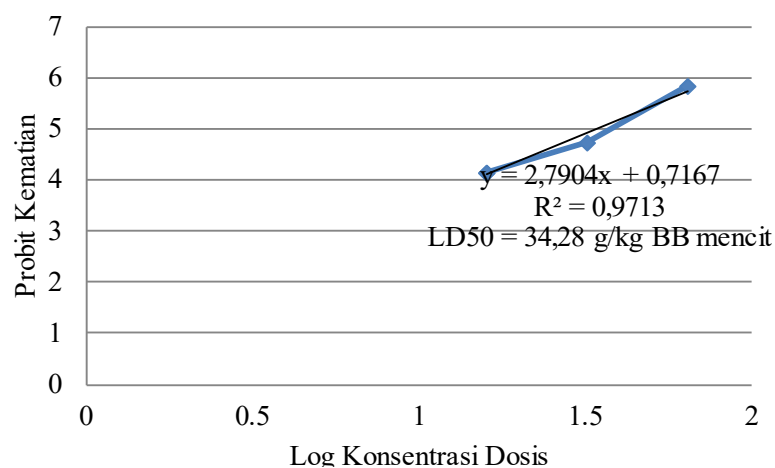
Analisis probit pada mencit jantan (Gambar 3) diperoleh hasil LD_{50} sebesar 34,28 g/kg berat badan mencit. Nilai R^2 atau koefisien korelasi dari grafik analisis probit pada mencit jantan bernilai 0,9713. Nilai koefisien korelasi tersebut menunjukkan hubungan yang linear antara kenaikan log konsentrasi dengan kenaikan probit persentase kematian.

Perhitungan LD_{50} pada mencit betina diperoleh hasil LD_{50} sebesar 22,41 g/kg berat badan. Grafik analisis probit pada

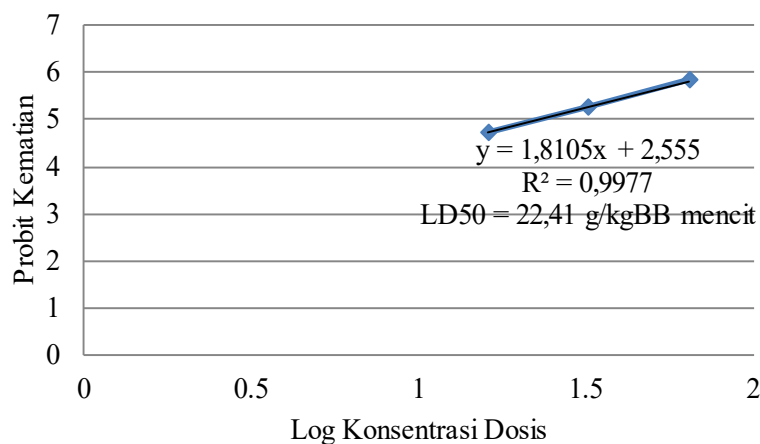
mencit betina ditunjukkan oleh Gambar 4.

Nilai R^2 atau koefisien korelasi dari grafik analisis probit pada mencit betina bernilai 0,9977. Nilai koefisien korelasi tersebut menunjukkan hubungan yang linear antara kenaikan log konsentrasi dengan kenaikan probit persentase kematian.

LD_{50} dari kelompok jantan dan betina menunjukkan nilai yang berbeda. LD_{50} kelompok jantan sebesar 34,280 g/kg berat badan mencit atau setara dengan 23,99 g/kg berat badan tikus. LD_{50} kelompok betina sebesar 22,41g/kg berat badan mencit atau setara dengan 15,69 g/kg berat badan tikus. Hal ini sesuai dengan teori bahwa antara jantan dan betina terdapat perbedaan kepekaan terhadap suatu toksikan.²⁰ Perbedaan tersebut dipengaruhi langsung oleh kelenjar endokrin, oleh karena itu



Gambar 3 Grafik Analisis Probit Mencit Jantan



Gambar 4 Grafik Analisis Probit Mencit Betina

dapat dikatakan perbedaan jenis kelamin mempengaruhi nilai LD_{50} .

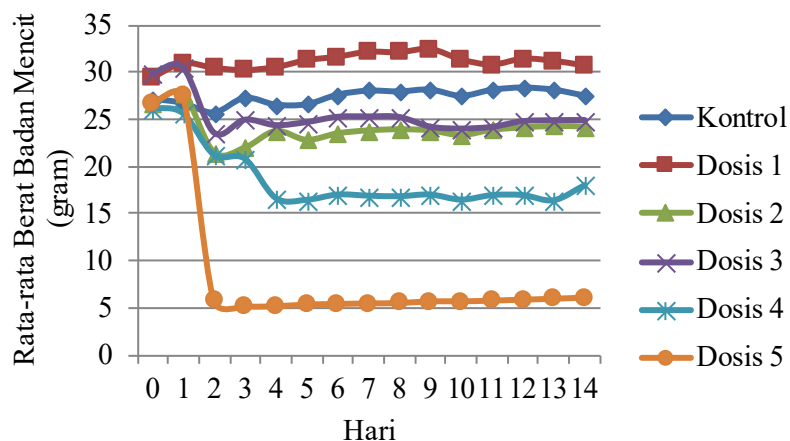
Nilai LD_{50} benalu mangga diputuskan dari nilai LD_{50} kelompok betina yakni sebesar 15,69 g/kg berat badan tikus.

Berdasarkan klasifikasi toksisitas,²¹ nilai LD_{50} tersebut termasuk pada rentang > 15 g/kg berat badan tikus dan dapat disimpulkan tingkat keamanan ekstrak benalu mangga adalah tidak toksik.

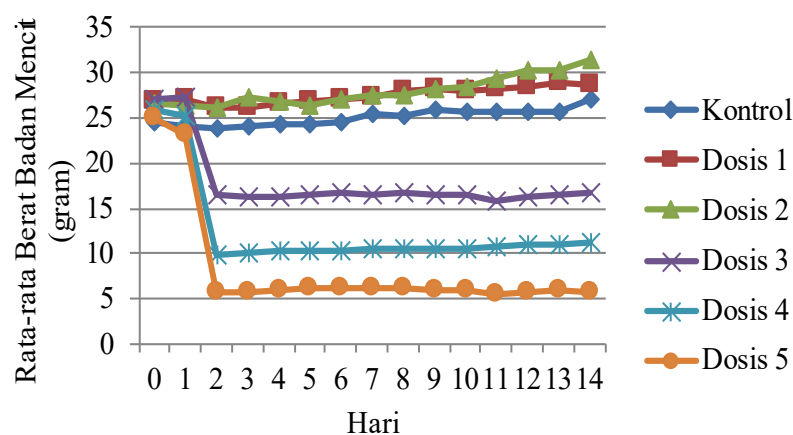
Pengamatan berat badan pada mencit jantan dan betina dilakukan selama 14 hari. Hal tersebut dilakukan untuk melihat pengaruh pemberian ekstrak benalu mangga terhadap perubahan berat badan yang terjadi selama 14 hari.

Selama 14 hari, terjadi fluktuatif perubahan berat badan mencit jantan dan

betina (Gambar 5 dan Gambar 6). Kondisi yang mengindikasikan hewan mengalami sakit dan / atau derita umumnya saat berat badan yang telah menurun lebih dari 20% dibandingkan dengan hewan kontrol, atau berat badan yang telah menurun lebih dari 25% selama periode 7 hari atau lebih. Biasanya, disertai dengan penurunan atau tidaknya konsumsi makanan.²² Hewan uji jantan maupun betina mengalami fluktuatif perubahan berat badan menandakan adanya sakit/ derita setelah pemberian ekstrak benalu mangga. Selain itu, skrining farmakologi terhadap suatu ekstrak dilakukan untuk memberikan gambaran pengaruh obat terhadap tubuh dan memberikan arah untuk penelitian lebih lanjut. Skrining meliputi serangkaian



Gambar 5 Grafik Rata-Rata Berat Badan Mencit Jantan Setelah Pemberian Ekstrak Benalu Mangga Selama 14 Hari Pengamatan



Gambar 6 Grafik Rata-Rata Berat Badan Mencit Betina Setelah Pemberian Ekstrak Benalu Mangga Selama 14 Hari Pengamatan

pengamatan yang diduga mengalami gejala toksik setelah pemberian sediaan uji dan evaluasi hasil pengamatan tersebut. Skrining farmakologi diamati saat sebelum diberikan sediaan uji dan pada $\frac{1}{2}$, 1, 2, 4, dan 24 jam setelah pemberian sediaan uji. Pengamatan dilakukan terhadap sistem saraf pusat meliputi motorik, gelantung, retablismen, katalepsi, sedatif, konvulsi, tremor, fleksi, hafner, pineal, pernafasan, straub, dan efek terhadap sistem saraf otonom meliputi piloereksi, salivasi, lakrimasi, urinasi, dan diare.

Kemudian, hasil pengamatan tersebut dianalisis dengan aplikasi *IBM SPSS Statistics version 20*. Hasil uji statistik data skrining farmakologi atas efek gelantung menggunakan metode Friedman pada mencit jantan diperoleh bahwa $p\text{-value} = 0,001 < \alpha = 0,05$ artinya H_0 ditolak, maka terdapat perbedaan efek gelantung pada mencit jantan yang signifikan sebagai pengaruh pemberian dosis. Dimana efek terbesar diberikan oleh dosis 4 dan dosis 5, kemudian dosis 2 dan dosis 3, dan yang paling kecil pengaruhnya terhadap efek gelantung yaitu kontrol dan dosis 1.

Hasil uji statistik data skrining farmakologi atas efek retablismen menggunakan metode Friedman pada mencit jantan diperoleh bahwa $p\text{-value} = 0,001 < \alpha = 0,05$ artinya H_0 ditolak, maka terdapat perbedaan efek retablismen

pada mencit jantan yang signifikan sebagai pengaruh pemberian dosis. Dimana efek diberikan dari efek terbesar sampai terkecil oleh dosis 5, dosis 4, dosis 3, kemudian dosis 2, dan yang paling kecil pengaruhnya terhadap efek gelantung yaitu kontrol dan dosis 1.

Hasil uji statistik data skrining farmakologi atas efek katalepsi menggunakan metode Friedman pada mencit betina diperoleh bahwa $p\text{-value} = 0,001 < \alpha = 0,05$ artinya H_0 ditolak, maka terdapat perbedaan efek katalepsi pada mencit betina yang signifikan sebagai pengaruh pemberian dosis. Dimana efek terbesar diberikan oleh dosis 3, sedangkan kelompok kontrol dan dosis lainnya menunjukkan efek yang tidak berbeda.

Sedangkan hasil uji statistik data skrining farmakologi atas parameter lainnya tidak terdapat perbedaan yang signifikan sebagai pengaruh pemberian dosis, dapat dikatakan tidak menimbulkan ketidaknormalan gejala klinis, selain parameter yang disebutkan sebelumnya.

Simpulan

Toksisitas akut ekstrak etanol herba benalu mangga menggunakan metode analisis probit pada mencit jantan dan betina menunjukkan tidak toksik berdasarkan klasifikasi toksisitas Harmita dan Radji,

yaitu berada pada rentang dosis > 15 g/kg berat badan tikus. LD_{50} pada mencit jantan sebesar 34,28 g/kg berat badan atau setara dengan dosis 23,99 g/kg berat badan tikus, sedangkan pada mencit betina sebesar 22,41 g/kg berat badan atau setara dengan dosis 15,69 g/kg berat badan tikus. Selain itu, diketahui adanya pengaruh pemberian ekstrak terhadap perubahan berat badan mencit.

Hasil yang diperoleh dari skrining farmakologi menunjukkan bahwa ekstrak etanol herba benalu mangga menimbulkan pengaruh pada sistem saraf pusat yaitu menurunkan efek retablismen dan gelantung pada mencit jantan, serta memberikan efek katalepsi pada mencit betina. Sedangkan pada parameter lain tidak menunjukkan adanya ketidaknormalan gejala klinis.

Ucapan Terima Kasih

Ucapan terimakasih sebesar-besarnya kepada seluruh civitas akademik Fakultas Farmasi Universitas Padjadjaran yang telah mendukung penulis untuk menyelesaikan studi program sarjana Farmasi.

Daftar Pustaka

1. Katrin AA., Soemardji AG, Soeganda S, Iwang, K Padmawinata. Pengaruh berbagai ekstrak daun benalu (*Dendrophthoe petandra* (L) Miq). J Bahan Alam Indonesia. 2005;4(1).
2. Purnomo B. Uji ketoksikan akut fraksi etanol daun benalu (*Dendrophthoe* Sp) pada mencit jantan dan uji kandungan kimia (skripsi). Yogyakarta: Fakultas Farmasi Universitas Gadjah Mada; 2000.
3. Pramudanti DR, Padaga MC, Winarso D. Pengaruh terapi ekstrak air benalu mangga (*Dendrophthoe petandra*) terhadap kadar albumin dan gambaran histopatologi ginjal hewan model tikus (*Rattus norvegicus*) hiperkolesterolemia [diunduh 9 Maret 2015]. Tersedia dari: [http://pkh.ub.ac.id/wpcontent /](http://pkh.ub.ac.id/wpcontent/uploads/2012/10/0911310037-DeshintaRiskiP.pdf)
4. Badan POM RI. Mari minum obat bahan alam dan jamu dengan baik dan benar. Info POM. 2011; 12(3) [diunduh 9 Maret 2015]. Tersedia dari: [perpustakaan.pom.go.id/Koleksi Lainnya/Buletin Info POM/0311.pdf](http://perpustakaan.pom.go.id/Koleksi_Lainnya/Buletin%20Info%20POM/0311.pdf).
5. Khakim A. Ketoksikan akut ekstrak air daun benalu (*Dendrophthoe petandra* (L)Miq. dan *Dendrophthoe falcata* (L.f). Ertingsh) pada mencit jantan dan uji kandungan kimia (skripsi). Yogyakarta: Fakultas Farmasi Universitas Gadjah Mada; 2000.
6. Lamanepa ELM. Perbandingan profil lipid dan perkembangan lesi aterosklerosis pada tikus wistar yang diberi diet perasan pare dengan diet perasan pare dan statin (tesis). Semarang: Magister Ilmu Biomedik Program Pascasarjana Universitas Diponegoro; 2005.
7. Artanti N, Ma'arifa Y, dan Hanafi M. Isolation and identification of active antioxsidant compound from star fruit mistletoe *dendrophthoe pentandra* (L) Miq, ethanol extract. J of App Sci. 2006; 6(8): 1659-1663.
8. Faiqoh. Uji aktivitas antiplasmodium ekstrak benalu secara in vivo pada mencit galur swiss. Prosiding elektronik PIMNAS Program Kreativitas Mahasiswa-Penelitian.; 2013 [diunduh 17 Desember 2015]. Tersedia dari: [http:// artikel.dikti.go.id/index.php/PKM-P/article/view/78](http://artikel.dikti.go.id/index.php/PKM-P/article/view/78).
9. Wicaksono. Potensi fraksi etanol benalu manga (*Dendrophthoe petandra*) sebagai agen anti kanker kolon pada mencit (*Mus musculus* Balb/c) setelah induksi dextran sulvat (DSS) dan azoxymethane (AOM). *J Biotropika*. 2013; 1(2): 75-79 [diunduh 17 Desember 2015]. Tersedia dari: <http://download.portalgaruda.org/>.
10. Rufaida F. Profil kadar kolesterol total, low density lipoprotein (LDL) dan gambaran histopatologis aorta pada tikus (*Rattus norvegicus*) hiperkolesterolemia dengan terapi ekstrak air

- benalu mangga (*Dendrophthoe petandra*) [diunduh 9 Maret 2015]. Tersedia dari: <http://pkh.ub.ac.id/wp-content/uploads/2012/10/0911310040-FannyR-ufaida.pdf>.
11. Astika. Penelitian hayati vol. 5 no. 2. Surabaya: PBI Komisariat Surabaya; 2000.
 12. Sukardiman. Efek Antikanker Isolat Flavonoid dari Herba Benalu Mangga (*Dendrophthoe petandra*) (skripsi). Surabaya: Fakultas Farmasi Universitas Airlangga; 1999.
 13. Imono AD. Toksikologi dasar. Yogyakarta: Fakultas Farmasi Universitas Gajah Mada; 2001.
 14. Connel DW, Miller GJ. Kimia dan ekotoksikologi pencemaran. Yanti K, Penerjemah. Jakarta: Penerbit Universitas Indonesia; 1995. Terjemahan dari chemistry and toxicology of pollution.
 15. DepKes RI. Pedoman pelaksanaan uji klinik obat tradisional. Jakarta: DepKes RI, DitJen POM, Direktorat Pengawasan Obat Tradisional; 2000.
 16. DepKes RI. Parameter standar umum ekstrak tumbuhan obat. Jakarta: DepKes RI; 2000.
 17. Wagner H, Bladt S. Plant drug analysis, a thin layer chromatography atlas 2nd Edition. Germany: Springer; 2009: 210-211.
 18. Hayes W, Dipasquale LC. Principle and methods of toxicology. London: The Gillette Company; 2001: 853-873.
 19. MenKes RI. Kep.Menkes.RI No: 661/Menkes/SK/VII/1994 tentang persyaratan obat tradisional [diunduh 17 Desember 2015]. Tersedia dari: http://bpmpt.jabbarprov.go.id/assets/data/arsip/Kepmenkes_661-MENKES-SK-VII1994_PERSYARATAN_OBAT_TRADISIONAL.pdf.
 20. Lazarovici P, Haya L. Chimeric toxin: mechanisms of actions and therapeutic applications. Taylor dan Francis Group; 2002.
 21. Harmita, R Maksun. Analisis hayati. Jakarta: Percetakan Ari Cipta; 2005: 51, 55.
 22. Organization for Economic Co-operation and Development (OECD). Guidance document on the recognition, assessment and use of clinical signs as humane endpoints for experimental animal used in safety evaluation environmental health and safety monograph series on testing and assessment no 19. Paris: Enviromental Directorate; 2000.