

---

## TOKSISITAS SUB KRONIK FRAKSI ETIL ASETAT BIJI LIMUS (*Mangifera foetida* Lour.) TERHADAP HEPAR DAN GINJAL PADA TIKUS PUTIH GALUR WISTAR

Vera Nurviana<sup>1\*</sup>, Yedy Purwandi Sukmawan<sup>1</sup>, Ghassani Fauzan Roeswanto<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Program Studi Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas BTH, Jl. Cilolohan 36 Tasikmalaya, Indonesia

\*E-mail korespondensi: [vearanurvia@universitas-bth.ac.id](mailto:vearanurvia@universitas-bth.ac.id)

Received: 15 Juli 2022; Revised: 15 Agustus 2022 ; Accepted: 16 Agustus 2022 ; Available online: 31 Agustus 2022

---

### ABSTRACT

The ethyl acetate fraction of limus ntaks (*Mangifera foetida* Lour.) was reported to have very strong antioxidant potential, so that the ethyl acetate fraction of limus seeds was very potential to be developed into herbal medicine. In addition to effectiveness, a condition that must be met in the development of herbal medicines is proof of safety. This study aims to determine the safety of the ethyl acetate fraction of limus seeds by observing the effect of subchronic administration on the liver and kidneys through the parameters of body weight, SGOT, SGPT, and creatinine levels. The research method used is in accordance with the provisions of the toxicity test set by the Food and Drug Supervisory Agency (BPOM). 40 white rats consisting of 20 male rats and 20 female rats were randomly grouped into 4 groups, namely normal control group (CMC Na 1%), test dose group I (4.2 mg/200 g BW rats), test dose group II (8.4 mg/200 g BW rats), and satellite (8.4 mg/200 g BW rats). The ethyl acetate fraction of limus seed was administered orally once a day for 28 days. The results showed that the administration of the ethyl acetate fraction of limus seeds did not significantly affect body weight, SGOT, and SGPT ( $P>0.05$ ), while the results of the examination of creatinine levels showed a significant difference with lower levels than the control ( $P<0,05$ ). Based on the results, concluded that the administration of the ethyl acetate fraction of limus seeds is safe for liver and kidney function in white rats of the wistar strain.

**Keywords:** *Mangifera foetida* Lour.; Subchronic Toxicity; SGOT; SGPT; Creatinine

### ABSTRAK

Fraksi etil asetat biji limus (*Mangifera foetida* Lour.) dilaporkan memiliki potensi antioksidan yang sangat kuat, sehingga fraksi etil asetat biji limus sangat potensial untuk dikembangkan menjadi obat herbal. Selain efektivitas, syarat yang harus dipenuhi dalam pengembangan obat herbal adalah bukti keamanan. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui keamanan fraksi etil asetat biji limus dengan mengamati efek pemberian sub kronik terhadap hepar dan ginjal melalui parameter uji berat badan, SGOT, SGPT, dan kadar kreatinin. Metode penelitian yang digunakan sesuai dengan ketentuan uji toksisitas yang ditetapkan oleh Badan Pengawas Obat dan Makanan (BPOM). Tikus putih sebanyak 40 ekor yang terdiri dari 20 ekor tikus jantan dan 20 ekor tikus betina dikelompokkan secara acak menjadi 4 kelompok yaitu kelompok kontrol normal (CMC Na 1%), kelompok dosis uji I (4,2 mg/200 g BB tikus), kelompok dosis uji II (8,4 mg/200 g BB tikus), dan satelit (8,4 mg/200 g BB tikus). Sediaan fraksi etil asetat biji limus diberikan secara oral sehari satu kali selama 28 hari. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian sediaan fraksi etil asetat biji limus tidak mempengaruhi berat badan, SGOT, dan SGPT secara signifikan ( $P>0,05$ ), sedangkan hasil pemeriksaan kadar kreatinin menunjukkan perbedaan yang signifikan dengan kadar yang lebih rendah dibanding kontrol ( $P<0,05$ ). Berdasarkan hasil maka dapat disimpulkan bahwa pemberian sediaan fraksi etil asetat biji limus aman terhadap fungsi hepar dan ginjal pada tikus putih galur wistar.

**Kata Kunci:** *Mangifera foetida* Lour.; Toksisitas Sub kronik; SGOT; SGPT; Kreatinin

## PENDAHULUAN

Fraksi etil asetat biji limus (*Mangifera foetida* Lour.) memiliki aktivitas antioksidan yang sangat kuat, dengan nilai IC<sub>50</sub> lebih kecil daripada asam askorbat sebagai pembandingnya (Nurviana *et al.*, 2018). Hasil tersebut menunjukkan bahwa fraksi etil asetat biji limus sangat potensial untuk dikembangkan menjadi obat herbal. Kendala utama penggunaan bahan alam atau herbal sebagai terapi suplemen untuk *suatu penyakit adalah kurangnya data* ilmiah mengenai khasiat dan keamanannya (Sukandar and Sheba, 2019).

Obat tradisional tidak menyebabkan keracunan tetapi karena mengandung zat kimia yang digunakan dalam waktu yang panjang maka efek toksik bisa saja terjadi (Arifin, *et al.*, 2006). Merujuk pada ketentuan BPOM, dalam pengembangan sediaan obat atau obat tradisional, selain memiliki bukti khasiat, diprasyaratkan juga pengujian toksisitas pada hewan percobaan yang berguna untuk melihat adanya reaksi biokimia, fisiologik dan patologik yang mungkin akan muncul sebelum penggunaan pada manusia.

Pengujian toksisitas sub kronik bertujuan untuk mengetahui dosis yang tidak menimbulkan efek toksik (*no observed adverse effect level/NOAEL*), mendeteksi efek toksik zat tersebut setelah pemberian secara berulang, serta mempelajari efek kumulatif dan efek reversibilitas. Uji ini dilakukan dengan memberikan zat dengan berbagai tingkat dosis setiap hari kepada kelompok hewan uji selama 4 minggu atau 3 bulan (BPOM RI, 2014).

Penelitian ini bertujuan untuk melakukan uji toksisitas sub kronik dari fraksi etil asetat kernel biji limus pada tikus putih galur wistar untuk mengetahui keamanan dari fraksi etil asetat biji limus apabila dikonsumsi dalam jangka waktu panjang. Pengamatan yang dilakukan dalam uji toksisitas sub kronik yaitu fungsi organ hepar dan ginjal setelah pemberian sediaan fraksi etil asetat biji limus (*Mangifera foetida* Lour.) selama 28 hari dengan parameter uji berat badan pada tikus putih galur wistar sebagai pengamatan gejala toksisitas, pengukuran kadar SGOT, (*Serum Glutamic Oxaloacetic Transaminase*), kadar SGPT (*Serum Glutamic Pyruvate Transaminase*), dan kadar kreatinin (Parasuraman, 2011).

## METODE PENELITIAN / METHOD

### Bahan

Bahan utama yang digunakan dalam penelitian yaitu biji limus (*Mangifera foetida* Lour.). Bahan penunjang lainnya yaitu *aquadest*, pereaksi Mayer, pereaksi Dragendrof, HCl, amil alkohol, logam Zn, besi (III) klorida, *aquadest*, gelatin 1%, eter, vanillin-sulfat, pereaksi Lieberman-Burchard, NaOH 2N, n-heksan, etil asetat, etanol 96%, reagen GOT-AST (Diasys), reagen GPT-ALT (Diasys), serta reagen kreatinin (Diasys).

### Hewan Uji

Hewan percobaan yang digunakan adalah tikus putih galur wistar yang berumur 6-8 minggu dengan bobot 200- 400gram sebanyak 40 ekor. Semua hewan diaklimatisasi selama 7 hari (BPOM RI, 2014).

### Pengumpulan Sampel dan Determinasi

Biji limus diperoleh dari daerah Tasikmalaya, Jawa Barat. Determinasi tanaman dilakukan di Laboratorium Herbarium, Sekolah Ilmu dan Teknologi Hayati, Institut Teknologi Bandung.

### Pembuatan Ekstrak dan Fraksi Etil Asetat Biji Limus

Serbuk simplisia biji limus (*Mangifera foetida* Lour.) dimaserasi dengan menggunakan pelarut etanol 96% hingga seluruh simplisia terendam. Pengadukan dilakukan selama 6 jam pertama, kemudian diamkan selama 18 jam. Ekstraksi dilakukan selama 3x24 jam (tiga kali pengulangan). Maserat diuapkan hingga diperoleh ekstrak kental.

Ekstrak kental dimasukan kedalam erlenmeyer ditambah pelarut n-heksan, gojog dengan menggunakan *shaker orbital* selama 6 jam, kemudian diamkan selama 18 jam pada suhu kamar, pisahkan filtrat dan residunya. Ulangi kembali terhadap residu hingga larutan n-heksan bening (tidak ada senyawa yang tertarik). Kemudian residu yang tidak larut n-heksan, di fraksinasi kembali menggunakan pelarut etil asetat sampai habis terlarut. Filtrat yang dihasilkan diuapkan hingga kental (fraksi etil asetat biji limus) (Nurviana *et al.*, 2018).

### Pengujian Toksisitas Sub kronik Fraksi Etil Asetat Biji Limus

Penelitian ini menggunakan tikus sebanyak 40 ekor (20 ekor tikus jantan dan 20 ekor tikus betina) dikelompokkan secara acak menjadi 4 kelompok, masing-masing kelompok menggunakan 10 ekor tikus terdiri dari 5 ekor tikus jantan dan 5 ekor tikus betina, dengan pengelompokan sebagai berikut:

- a. Kelompok pertama sebagai kelompok kontrol normal yaitu tikus hanya diberi makan dan minum serta diberi larutan CMC Na 1% secara oral sehari satu kali yang diberikan setiap pagi selama 28 hari.
- b. Kelompok kedua sebagai dosis uji I, tikus diberi makan dan minum serta diberi dosis uji 4,2 mg/200 g BB tikus secara oral sehari satu kali yang diberikan setiap pagi selama 28 hari.
- c. Kelompok ketiga sebagai dosis uji II, tikus diberi makan dan minum serta diberi dosis uji 8,4 mg/200 g BB tikus secara oral sehari satu kali yang diberikan setiap pagi selama 28 hari.
- d. Kelompok keempat sebagai kelompok satelit, tikus diberi makan dan minum serta diberi dosis uji 8,4 mg/200 g BB tikus secara oral sehari satu kali yang diberikan setiap pagi selama 28 hari.

Pada hari ke-29 untuk kelompok kontrol normal, dosis uji I dan dosis uji II dilakukan pemeriksaan parameter uji SGOT, SGPT dan kadar kreatinin. Sedangkan untuk kelompok satelit pemeriksaan parameter uji dilakukan pada hari ke 42 (14 hari setelah akhir pemberian sediaan uji).

#### **Pengamatan Perilaku Aktivitas Motorik Hewan Uji**

Pengamatan terjadinya gejala-gejala toksik dan gejala klinis yang berupa perubahan kulit, bulu, mata, perubahan cara jalan, tingkah laku yang aneh, dan kejang dilakukan setiap hari selama 28 hari. Sedangkan untuk kelompok satelit pengamatan dilanjutkan selama 14 hari kemudian untuk mendeteksi proses penyembuhan kembali dari pengaruh toksik (BPOM RI, 2014).

#### **Penimbangan Berat Badan Tikus**

Monitoring kenaikan berat badan dilakukan setiap hari. Hewan ditimbang setiap hari untuk menentukan ada atau tidaknya kenaikan atau penurunan berat badan (BPOM RI, 2014).

#### **Penyiapan Sampel Serum**

Pemeriksaan kadar SGOT, SGPT dan kreatinin dilakukan dengan metode reaksi enzimatik. Pengambilan sampel darah dilakukan dengan cara memotong ekor tikus dan darahnya ditampung dalam tabung *ependorff*, kemudian di sentrifugasi selama 10 menit dengan kecepatan 3000 rpm dengan tujuan untuk memisahkan serum yang akan digunakan untuk pemeriksaan (BPOM RI, 2014).

#### **Pemeriksaan Kadar SGOT, SGPT dan Kadar Kreatinin**

Pemeriksaan kadar SGOT, SGPT dan kreatinin dilakukan dengan metode reaksi enzimatik.

#### **Analisis Data**

Analisis data yang digunakan pada penelitian ini menggunakan SPSS 16 dengan metode statistik ANOVA diantaranya uji normalitas, uji homogenitas, dan uji tukey.

## **HASIL DAN PEMBAHASAN**

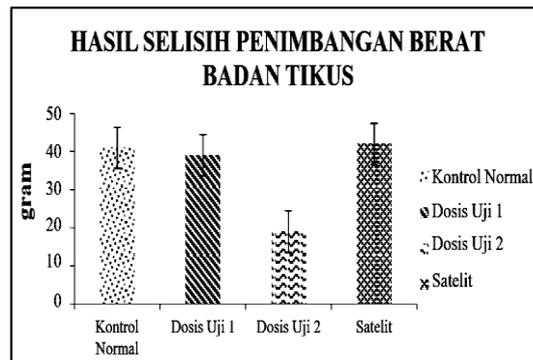
Fraksi Etil asetat biji limus pada penelitian ini dibuat sesuai prosedur sebelumnya yang terbukti memiliki aktivitas antioksidan yang sangat kuat. Penetapan dosis uji 1 fraksi etil asetat biji limus diperoleh dari perbandingan nilai  $IC_{50}$  fraksi etil asetat dengan  $IC_{50}$  asam askorbat (sebagai senyawa antioksidan yang terbukti sangat kuat dan banyak digunakan di pasaran) yang kemudian dikonversi terhadap dosis vitamin C untuk pengobatan. Dosis 2 adalah 2 kali dosis uji 1 atau diibaratkan 100% aktivitas antioksidannya fraksi etil asetat biji limus.

#### **Hasil Pengamatan Perilaku Aktivitas Motorik Hewan Uji**

Pengamatan aktivitas motorik pada hewan uji tidak menunjukkan terjadinya gejala toksisitas seperti adanya perubahan kulit, bulu, mata, cara berjalan, tingkah laku yang aneh, dan kejang. Tikus jantan maupun betina pada setiap kelompok berada dalam keadaan normal sebelum maupun setelah perlakuan. Hal ini menunjukkan bahwa pemberian sediaan fraksi etil asetat biji limus (*Mangifera foetida* Lour.) secara oral selama 28 hari tidak mempengaruhi aktivitas motorik hewan uji. Begitu pun hasil pengamatan terhadap kelompok satelit yang diperpanjang hingga 42 hari tidak memberikan pengaruh terhadap aktivitas motorik tikus.

### Hasil Penimbangan Berat Badan Tikus

Monitoring berat badan tikus bertujuan untuk melihat homogenitas data dari kenaikan maupun penurunan berat badan tikus, baik jantan maupun betina yang dilakukan sebelum, saat, dan setelah perlakuan. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pada setiap kelompok mengalami peningkatan berat badan, dikarenakan usia tikus yang masih berada dalam masa pertumbuhan. Profil perkembangan berat badan pada studi toksisitas akut dan subkronis menunjukkan peningkatan berat badan semua hewan uji, menunjukkan bahwa sediaan tidak memiliki efek toksik umum dan tidak mengurangi nafsu makan (Arthur *et al.*, 2011).

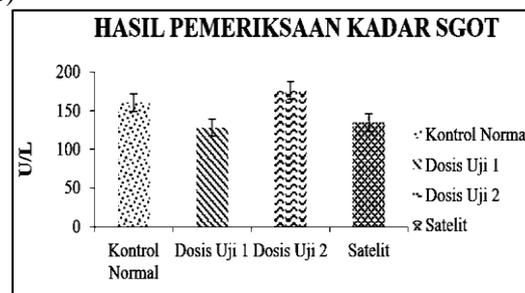


Gambar 1. Grafik Hasil Penimbangan Berat Badan Tikus  
(\* Menunjukkan tidak terdapat perbedaan yang signifikan ( $P>0,05$ ))

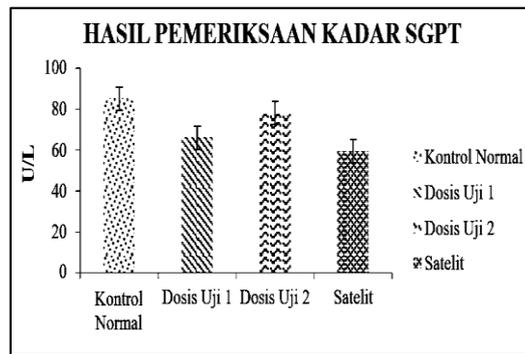
Hasil analisis ANOVA menunjukkan bahwa tidak terdapat perbedaan yang signifikan untuk selisih penimbangan berat badan tikus selama perlakuan pada seluruh kelompok uji. Hal tersebut menandakan bahwa pemberian sediaan fraksi etil asetat biji limus (*Mangifera foetida* Lour.) dengan dosis 4,2 mg/200 g BB tikus dan 8,4 mg/200 g BB tikus tidak menunjukkan toksisitas.

### Hasil Pemeriksaan Kadar SGOT, SGPT dan Kadar Kreatinin

Hati disusun oleh sel-sel hati yang disebut hepatosit. Apabila terjadi gangguan di hati yang menyebabkan rusaknya hepatosit maka akan terjadi over ekspresi dari enzim-enzim yang diproduksi oleh hepatosit (Ramadori *et al.*, 2008). Kenaikan enzim-enzim inilah yang menjadi penanda adanya gangguan pada organ hati (Zulkarnain *et al.*, 2017). SGOT dan SGPT merupakan enzim hati, kadar SGOT dan SGPT dapat menunjukkan tingkat kerusakan hepar. Salah satu parameter fungsi ginjal adalah kreatinin. Kreatinin merupakan produk akhir atau sisa metabolisme tubuh. Apabila sisa metabolisme tubuh tersebut dibiarkan menumpuk, zat tersebut bisa menjadi racun bagi tubuh, terutama ginjal (Suryawan *et al.*, 2016)

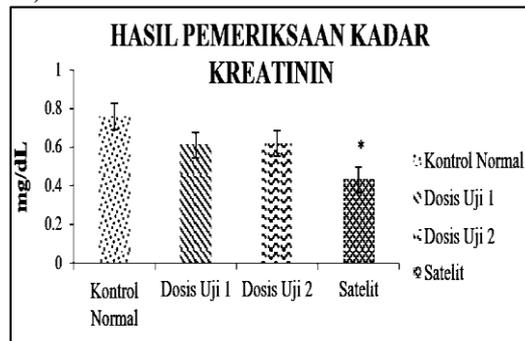


Gambar 2. Grafik Hasil Pemeriksaan Kadar SGOT  
(\* Menunjukkan tidak terdapat perbedaan yang signifikan ( $P>0,05$ ))



Gambar 3. Grafik Hasil Pemeriksaan Kadar SGPT  
(\* ) Menunjukkan tidak terdapat perbedaan yang signifikan ( $P>0,05$ )

Berdasarkan gambar 2 dan 3, hasil pengukuran SGOT dan SGPT menunjukkan tidak ada perbedaan yang signifikan antar semua kelompok uji, dengan kadar semua kelompok berada pada rentang normal, hal ini menunjukkan bahwa pemberian sediaan fraksi etil asetat biji limus tidak memberikan efek toksik (aman).



Gambar 4. Grafik Hasil Pemeriksaan Kadar Kreatinin  
(\* ) Menunjukkan tidak terdapat perbedaan yang signifikan ( $P>0,05$ )

Berdasarkan gambar 4, terdapat perbedaan yang signifikan (\*) pada hasil pengukuran kadar kreatinin kelompok uji satelit akan tetapi penurunan kadar kreatinin tersebut masih berada dalam rentang normal. Sedangkan kelompok lainnya tidak memberikan perbedaan yang signifikan. Dengan demikian dapat disimpulkan bahwa pemberian sediaan fraksi etil asetat baik dosis 4,2 mg/200 g BB tikus maupun 8,4 mg/200 g BB tidak menimbulkan efek toksik pada ginjal (aman). Senyawa metabolit sekunder flavonoid memiliki aktivitas antioksidan yang kuat yang dapat menetralkan radikal bebas serta dapat menurunkan kadar ureum dan kreatinin dalam darah, mencegah disfungsi ginjal dan tidak menimbulkan efek toksik terhadap ginjal (Puspitaningrum *et al*, 2018)

### KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian, maka dapat disimpulkan bahwa pemberian sediaan fraksi etil asetat biji limus secara sub kronik tidak menunjukkan adanya gejala toksik sehingga dapat dinyatakan aman terhadap fungsi hepar dan ginjal pada tikus putih galur wistar.

### DAFTAR PUSTAKA

1. Nurviana, V., Yeni, A., Kartika, E., 2018, Skrining Aktivitas Antioksidan Fraksi Ekstrak Etanol Kernel Biji Limus, *Pharma Xplore: Jurnal Sains dan Ilmu Farmasi*, Vol. 3. No. 2.

2. Sukandar, E.Y., Sheba, S.H., 2019, Acute and Sub-chronic Toxicity Studies of Combination of *Physalis angulata* L. (Cecendet) Extract and Methylprednisolone on Animals, *International Journal of Integrated Health Sciences*, 7(1), 48-55.
3. Arifin, H., Anggraini, N., dan Rasyid, R., 2006, Standardisasi Ekstrak Etanol Daun *Eugenia Cumini* Merr., *J. Sains Tek Far*, Vol. 11, No. 2.
4. BPOM RI, 2014, Peraturan Kepala Badan Pengawas Obat Dan Makanan Republik Indonesia Nomor 7 Tahun 2014 Tentang Pedoman Uji Toksisitas Nonklinik Secara In Vivo, Kepala Badan Pengawas Obat Dan Makanan Republik Indonesia. Jakarta.
5. Parasuraman P, 2011, Toxicological screening, *J. Pharmacol Pharmacother*, Vol. 2, No. 2.
6. Arthur FKN, Woode E, Terlabi EO, Larbie C., 2011, Evaluation of acute and subchronic toxicity of *Annona Muricata* (Linn.) aqueous extract in animals. *Eur J Exp Biol*, 1(Suppl 4):115–24.
7. Ramadori G, Moriconi F, Malik I, Dudas J., 2008, Physiology and Pathophysiology of Liver Inflammation, Damage and Repair. *J Physiol Pharmacol*, 59 (Suppl 1):107-17.
8. Zulkarnain, Z., Novianto, F., Saryanto, 2017, Phase Ii Clinical Trial of Jamu for Hepatoprotector, *Buletin Penelitian Kesehatan*, Vol. 45, No. 2: 125 – 136.
9. Suryawan, D G A., Arjani, I A M S., Sudarmanto, I G., 2016. Gambaran Kadar Ureum dan Kreatinin Serum pada Pasien Gagal Ginjal Kronis yang Menjalani Terapi Hemodialisis di RSUD Sanjiwani Gianyar. *Meditory*. Vol. 4, No.2.
10. Puspitaningrum, L. S., Tjahjono, K., Candra, A, 2018, Pengaruh Pemberian Ekstrak Daun Kelor (*Moringa oleifera*) terhadap Kadar Ureum dan Kreatinin Serum Tikus Wistar yang Diinduksi Formalin. *Jurnal Kedokteran Diponegoro*. Vol. 7, No. 2.