

UJI TOKSISITAS SUBKRONIS EKSTRAK BIJI LABU KUNING (*C. moschata*) TERHADAP HISTOLOGI HEPAR DAN GINJAL MENCIT

Sri Tasminatun, Irene Wulan Syafitri

Program Studi Farmasi, Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan

Universitas Muhammadiyah Yogyakarta

Email: sri.tasminatun@umy.ac.id

INTISARI

Biji labu kuning (*Cucurbita moschata*) mengandung senyawa fenolik, alkaloid, tannin, flavonoid, terpenoid, saponin dan kukurbitasin yang memiliki efek antioksidan, antibakteri, antihipertensi, kardioprotektif, antidiabetes, serta dapat menurunkan kadar LDL (*Low Density Lipoprotein*). Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek toksik ekstrak biji labu kuning secara subkronik terhadap histologi hepar dan ginjal.

Penelitian dilakukan secara *in vivo* menggunakan hewan uji mencit yang diberi perlakuan selama 30 hari. Data diperoleh dari hasil pengamatan histologi hepar dan ginjal mencit yang dianalisis menggunakan Kruskal-Wallis dan dilanjutkan dengan Mann-Whitney dengan taraf kepercayaan 95%. Dari hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa ekstrak biji *C. moschata* secara subkronik menimbulkan efek toksik terhadap perubahan histologi hepar dan ginjal mencit.

Kata kunci : *Cucurbita moschata*, toksisitas subkronis, histologi hepar dan ginjal

1. PENDAHULUAN

Secara garis besar, penelitian dan pengembangan suatu obat dibagi menjadi beberapa tahapan, antara lain uji praklinik dan uji klinik. Didalam uji pra-klinik, harus dilakukan sintesis dan skrining molekul, serta studi pada hewan percobaan. Untuk mengetahui efek farmakologi, suatu senyawa yang baru ditemukan (hasil isolasi

maupun sintesis) terlebih dahulu diuji dengan serangkaian uji farmakologi pada hewan, yang disebut sebagai studi pada hewan percobaan. Serangkaian uji farmakologi tersebut, antara lain uji farmakodinamika, uji farmakokinetik, uji toksikologi, dan uji farmasetika (Lin & Lu, 1997).

Uji toksisitas merupakan uji yang diperlukan untuk menilai keamanan suatu obat, maupun bahan yang dipakai sebagai suplemen ataupun makanan agar masyarakat terhindar dari efek yang mungkin merugikan (Donatus, 2001). Uji toksisitas bertujuan untuk mengetahui efek jangka pendek, jangka panjang dan dosis yang sesuai dari bahan yang mengandung senyawa aktif (Wirasuta, 2007). Menurut waktu pemberiannya, uji toksisitas dibedakan menjadi tiga bagian, yaitu uji toksisitas akut, subkronis, dan kronis.

Efek toksik sering terlihat pada organ hepar dan ginjal. Hepar berperan sentral dalam memetabolisme semua obat dan bahan-bahan asing yang masuk ke dalam tubuh. Ginjal berfungsi sebagai organ pekekskresi obat dan makanan. Kedua organ tersebut adalah organ yang sangat terlihat efeknya apabila terpapar oleh senyawa yang toksik (Hodgson, 2004). WHO mendukung upaya-upaya dalam peningkatan keamanan dan khasiat dari senyawa aktif yang diambil dari tanaman

obat dengan melakukan uji toksisitas (WHO, 2013).

Hasil penelitian Patel (2013) menunjukkan bahwa ekstrak biji *C. moschata* memiliki aktivitas sebagai antioksidan, hipolipidemi, antihipertensi, kardioprotektif, antidiabetes, dan antihelmintik. Hasil penelitian Pabesak (2013) menunjukkan bahwa ekstrak biji *C. moschata* memiliki aktivitas sebagai antioksidan. Hal tersebut diperkuat dengan penelitian Rustina (2016) yang menunjukkan bahwa ekstrak biji *C. moschata* memiliki aktivitas sebagai antioksidan dan antibakteri.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek toksik ekstrak biji *C. moschata* terhadap histologi hepar dan ginjal hewan uji. Pengujian dilakukan menggunakan metode *in vivo* menggunakan hewan uji mencit.

2. METODE PENELITIAN

Penelitian ini dilakukan secara eksperimental laboratorium dengan metode *in vivo* menggunakan hewan uji mencit.

2.1. Alat dan Bahan

Alat yang digunakan meliputi bejana, blender, *rotary evaporator*, penangas (*waterbath*), corong, alat-alat gelas, kertas label, kompor listrik, timbangan analitik, seperangkat alat bedah, seperangkat alat pembuat preparat histologi, mikroskop.

Bahan yang digunakan antara lain biji labu kuning, etanol 70%, *aquadest*, CMC Na 0,5%, kloroform, formalin 10%, pewarna HE, dan paraffin.

2.2. Tahap Persiapan

Tahap persiapan terdiri dari beberapa penyiapan meliputi pengumpulan bahan biji *C. moschata* yang diperoleh dari daerah Purwodadi, identifikasi biji *C. moschata* yang dilakukan di Laboratorium Biologi farmasi UGM, dan ekstraksi menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol 70%.

2.3. Uji Toksisitas Subkronik

Hewan uji di aklimatisasi selama 7 hari dengan diberi pakan AD II serta minum di dalam laboratorium Biomedik FKIK

UMY. Hewan uji dibagi menjadi 4 kelompok yaitu kelompok kontrol, kelompok perlakuan dengan dosis 400 mg/kgBB (CM 400), kelompok perlakuan dengan dosis 600 mg/kgBB (CM 600), dan kelompok perlakuan dengan dosis 900 mg/kgBB (CM 900). Setiap kelompok terdiri dari 6 ekor mencit.

Pemberian ekstrak biji *C. moschata* dilakukan secara per-oral menggunakan sonde selama 30 hari. Pada hari ke-31 dilakukan pembedahan serta diambil organ hepar dan ginjal hewan uji yang difiksasi menggunakan formalin 10%. Pembuatan preparat histologi organ hepar dan ginjal dilakukan dengan pengecatan HE.

2.4. Analisis Data

Data yang diperoleh berupa gambaran histologi hepar dan ginjal yang diubah ke dalam bentuk skor kerusakan sel hepar dan ginjal. Data skor kerusakan hepar Mandja Roenigk, skor perdarahan ginjal, dan skor jumlah PMN ginjal dianalisis statistik menggunakan Kruskal Wallis

kemudian dilanjutkan dengan Mann Whitney dengan taraf kepercayaan 95%.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Ekstrak biji *C. moschata* dosis 400 mg/kgBB yang digunakan setara dengan dosis 44,33 mg/kgBB untuk manusia, dan setara dengan 729,1 mg biji *C. moschata*. Ekstrak biji *C. moschata* dosis 600 mg/kgBB yang digunakan setara dengan dosis 66,49 mg/kgBB untuk manusia, dan setara dengan 1.093 mg biji *C. moschata*. Ekstrak biji *C. moschata* dosis 900 mg/kgBB yang digunakan setara dengan dosis 99,74 mg/kgBB untuk manusia, dan setara dengan 1.640 mg biji *C. moschata*. Pemberian ekstrak biji *C. moschata* selama 30 hari pada mencit setara dengan 34 bulan pemberian perlakuan pada manusia (Benitz, 1970).

Pemberian ekstrak biji *C. moschata* dilakukan secara peroral menggunakan sonde selama 30 hari. Ekstrak biji *C. moschata* diberikan kepada mencit dilarutkan dengan CMC Na 0,5% yang berfungsi sebagai emulgator. Dalam

Handbook of Pharmaceutical Excipient disebutkan bahwa CMC Na 0,5% merupakan senyawa yang tidak toksik dan tidak menimbulkan iritan, sehingga aman untuk digunakan sebagai pelarut.

Pada hari ke 31 dilakukan pembedahan seluruh hewan uji yang sebelumnya telah dikorbankan menggunakan kloroform. Kloroform adalah salah satu cara terbaik untuk mengorbankan hewan uji dengan cara inhalasi, karena prosesnya yang cepat dan tidak meninggalkan bekas luka pada kondisi fisik hewan uji (Malole, 1989). Pembedahan dilakukan menggunakan seperangkat alat bedah dan diambil organ hepar dan ginjal. Organ tersebut difiksasi menggunakan formalin 10%. Formalin digunakan sebagai pengawet organ karena dapat bereaksi dengan protein sehingga membentuk rangkaian-rangkaian antara protein yang berdekatan, sehingga protein mengeras dan tidak dapat larut (Standen, 1966 cit Herdiantini, 2003).

Preparat histologi organ hepar dan ginjal menggunakan pewarnaan dengan metode Harris Hematoxylin-Eosin (HE). Metode pewarnaan HE bertujuan untuk mempertajam dan memperjelas jaringan yang akan diamati di bawah mikroskop. Metode pewarnaan HE memiliki beberapa kelebihan, yaitu memiliki 2 komponen yang mampu mewarnai berdasarkan sifat jaringannya, hematoksilin mampu mewarnai unsur basofilik jaringan, dan eosin dapat mampu mewarnai unsur asam jaringan (Culling, 1974).

Struktur hepatosit yang mengalami degenerasi parenkim, degenerasi hidropik, dan nekrosis sangat berbeda dengan struktur hepatosit normal. Pada jaringan hepar normal terlihat inti sel yang masih terlihat jelas, sitoplasma tidak rusak, serta susunan sel hepatosit yang radial dari vena sentral menuju perifer. Sedangkan pada jaringan hepar abnormal terlihat inti sel yang mengalami degenerasi parenkim/perdarahan, degenerasi hidropik dan nekrosis. Pada degenerasi parenkim

ditandai dengan adanya inti yang terlihat terdesak ke tepi, vakuola (ruang-ruang kosong) yang disebabkan karena sel hepatosit membengkak dan granular-granular terlihat jelas. Degenerasi parenkim ini disebut *cloudy swelling* yaitu terbentuknya vakuola-vakuola yang terlihat seperti berawan. Sedangkan pada degenerasi hidropik ditandai dengan vakuola yang berisi air di dalam sitoplasmanya dan tidak mengandung lemak atau glikogen, sehingga sel hepatosit terlihat lebih terang dibandingkan sel yang mengalami degenerasi parenkim. Sel yang mengalami nekrosis mengalami kematian sel dengan perubahan inti yang terlihat lebih kecil, kromatin dan serabut retikuler menjadi berlipat-lipat (Kumar, 2013).

Pada penelitian ini pemberian ekstrak biji *C. moschata* secara subkronik menimbulkan degenerasi parenkim, degenerasi hidropik, dan nekrosis. Kerusakan sel hepar berupa degenerasi dapat terjadi karena adanya akumulasi bahan toksik atau metabolit lain. Hal

tersebut mengakibatkan proses detoksifikasi menjadi terhambat atau berjalan lebih lambat sehingga sel hepar yang belum selesai bekerja mendetoksifikasi akan terkena paparan zat toksik dan terakumulasi dalam sel hepatosit (Kumar, 2013).

Perdarahan pada sel ginjal disebabkan karena adanya jejas (perubahan), seperti trauma, peradangan, atau erosineoplastik pada pembuluh darah yang menyebabkan keluarnya darah akibat pecahnya pembuluh darah (Robbins dan Kumar, 1995). Faktor yang dapat menyebabkan perdarahan sel ginjal dalam penelitian ini adalah kemampuan ginjal untuk mengkonsentrasikan substansi *xenobiotik* dan metabolitnya di dalam sel (Hodgson, 2004).

Senyawa aktif yang terkandung dalam ekstrak biji *C. moschata* jika diberikan dalam dosis tepat akan bermanfaat bagi tubuh, namun jika dalam dosis berlebihan akan berpotensi menyebabkan toksisitas pada organ ginjal.

Hal ini dikarenakan tumbuhan memproduksi beberapa senyawa kimia beracun yang berguna sebagai mekanisme pertahanan terhadap hewan herbivora, khususnya serangga dan mamalia (Sudharmono, 2014). Salah satu kandungan dalam biji *C. moschata* yang memiliki efek terhadap sel ginjal adalah tannin. Tannin merupakan salah satu senyawa yang dapat menyebabkan defisiensi oksigen terhadap jaringan akibat pembentukan hemoglobin menjadi tidak adekuat (Hagerman, 2002).

Gambaran histologi ginjal menunjukkan adanya kerusakan sel ginjal berupa peradangan yang dibuktikan dengan adanya sel PMN (*Polymorfonuclear*) yang merupakan sel darah putih untuk melawan paparan senyawa toksik yang masuk ke dalam tubuh. Adanya sel PMN tersebut disebabkan oleh senyawa yang bersifat nefrotoksik yakni tannin yang terkandung dalam ekstrak biji *C. moschata*. Hagerman (2002) menjelaskan bahwa asupan besar tannin dapat menyebabkan iritasi usus, iritasi ginjal, kerusakan hepar, iritasi

lambung, dan sakit pencernaan.

Penggunaan bahan yang mengandung tannin dosis tinggi tidak dianjurkan dalam jangka waktu yang panjang atau berlebihan.

4. KESIMPULAN

Pemberian ekstrak biji labu kuning (*C. moschata*) secara subkronis dosis 400 mg/kgBB, 600 mg/kgBB, dan 900 mg/kgBB menunjukkan adanya perubahan histopatologis pada sel hepar dan ginjal mencit (*Mus musculus*).

5. SARAN

Perlu dilakukan uji SGOT, SGPT, kreatinin dan ureum melalui serum darah untuk mendapatkan informasi yang lebih akurat mengenai kerusakan hepar dan ginjal akibat paparan ekstrak biji labu kuning (*C. moschata*).

6. REFERENSI

- Benitz, K.F. 1970. *Measure of Chornic Toxicity*. In Pagest, G.E. (Ed). *Methods in Toxicology*. Oxford: Blackwell Scientific Publications.
- Culling, C.F.A. 1974. *Handbook of Histopatological and Techniques, Third Edition*. Butterworths & CO.
- Donatus, I.A., 2001. *Toksikologi Dasar*. Yogyakarta: Laboratorium Farmakologi dan Toksikologi Fakultas Farmasi Universitas Gadjah Mada. 100-2.
- Hagerman, A.E. 2002. *Tannin Chemistry*. Oxford, USA: Departemenr of Chemistry and Biochemistry Miami University.
- Hodgson E, Levi PE. 2004, *A Textbook of Modern Toxicology, 3rd ed*. New York: john Wiley&Sons.
- Kumar, V., Abbas, A.K., Aster, J.C., 2013. *Robbins Basic Pathology*. Elsevier Health Sciences.
- Lin, J.H. and Lu, A.Y.H., 1997, *Role of Pharmacokinetics and Metabolism in Drug Discovery and Development, Pharmacological Reviews*, vol. 49 no 4.
- Malole, M.M.B, Pramono, C.S.U. 1989. *Penggunaan Hewan-hewan Percobaan Laboratorium*. Bogor: Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi Pusat Antar Universitas Bioteknologi IPB.
- Pabesak, R.V., Dewi, L., Lestario, L.N., 2013. *Aktivitas Antioksidan dan Fenolik Total pada Tempe dengan Penambahan Biji Labu Kuning (Cucurbita moschata ex Poir)*. Salatiga; Universitas Kristen Satya Wacana.
- Patel, S., 2013. *Pumpkin (Cucurbita sp.) seeds as nutraceutic: a review on status quo and scopes*. San Diego; Springer-Verlag Italia.
- Robbins SL, Kumar V, Oswari J, editor. 1995. *Buku Ajar Patologi 1 (Basic Pathology)*. Jakarta: EGC.
- Rofiqoh, A.D., 2015. *Uji Toksisitas Subkronik Ekstrak Air Daun Katuk (Sauropus androgynous) Terhadap Kadar Bilirubin Serum dan Histologi Hepar Tikus (Rattus norvegicus) Betina*. Malang; Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim.

- Sudharmono, 2014. *Uji Keamanan Ekstrak Etanol Daun Mindi (Melia azedarach L.) Pada Tikus Galur Wistar Berdasarkan Dosis Letal 50 serta Gambaran Histopatologi Hepar dan Ginjal*. Bandung; Fakultas Ilmu Keperawatan UNAI.
- Wirasuta, I Made Agus Gelgel., Suardamana, K. 2007. *Analisis Toksikologi Klinik: Tantangan Baru Bagi Farmasis Indonesia*. Denpasar; Universitas Udayana.
- World Health Organization. 1993. *Research Guidelines for Evaluating the Safety and Efficacy of Herbal Medicines*. Manila: World Health Organization Regional Office for the Western Pacific.