

**UJI TOKSISITAS AKUT PENGGUNAAN ORAL MINYAK CENGKEH
(*Oleum caryophylli*) TERHADAP FUNGSI HATI DAN GINJAL TIKUS
MELALUI ANALISIS BIOMARKER DARAH DAN URIN**

**ACUTE ORAL TOXICITY EVALUATION OF CLOVE OIL (*Oleum
caryophylli*) ON LIVER AND KIDNEY FUNCTION OF WHITE RATS
HEPATIC AND RENAL FUNCTION THROUGH BLOOD AND URINE
BIOMARKER ANALYSIS**

**SURYA NENGSI
P2500216021**



**PROGRAM PASCASARJANA
FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2020**

**UJI TOKSISITAS AKUT PENGGUNAAN ORAL MINYAK CENGKEH
(*Oleum caryophylli*) TERHADAP FUNGSI HATI DAN GINJAL TIKUS
MELALUI ANALISIS BIOMARKER DARAH DAN URIN**

Tesis

Sebagai Salah Satu Syarat untuk Mencapai Gelar Magister

Program Studi
Magister Farmasi

Disusun dan diajukan oleh:

SURYA NENGSI

Kepada

**PROGRAM PASCASARJANA
FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2020**

TESIS

UJI TOKSISITAS AKUT PENGGUNAAN ORAL MINYAK CENGKEH (*Oleum caryophylli*) TERHADAP FUNGSI HATI DAN GINJAL TIKUS MELALUI ANALISIS BIOMARKER DARAH DAN URIN

Disusun dan diajukan oleh

SURYA NENGI

Nomor Pokok P2500216021

Telah dipertahankan di depan Panitia Ujian Tesis

Pada tanggal, 13 November 2020


Dan dinyatakan telah memenuhi syarat

Menyetujui

Komisi Penasehat,


Yulia Yusrini Djibir, M.Si., M.BM. Sc., Ph.D., Apt.

Ketua


Prof. Dr. rer. nat. Marianti A. Manggau., Apt.

Anggota

Dekan Fakultas Farmasi
Universitas Hasanuddin



Prof. Subehan, M.Pharm. Sc. Ph.D., Apt.



Ketua Program Studi
Magister Ilmu Farmasi



Muhammad Aswad, M.Si., Ph.D., Apt.

PERNYATAAN KEASLIAN TESIS

Yang bertanda tangga disini :

Nama : Surya Nengsi

Nomor Mahasiswa : P2500216021

Program Studi : Farmasi

Penelitian : Uji Toksisitas Akut Penggunaan Oral Minyak Cengkeh (*Oleum caryophylli*) Terhadap Fungsi Hati Dan Ginjal Tikus Melalui Analisis Biomarker Darah dan Urin.

Menyatakan dengan sebenar-benarnya bahawa tesis yang saya tulis ini benar merupakan hasil karya saya sendiri, bukan merupakan pengambilan tulisan atau kepemilikan orang lain. Apabila dikemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan bahwa sebagian atau keseluruhan tesis isi hasil karya orang lain, saya sendiri siap menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Makassar, November 2020

Yang menyatakan



Surya Nengsi

PRAKATA

Segala puji dan syukur penulis panjatkan kehadirat Allah SWT yang senantiasa melimpahkan rahmat dan hidayah-Nya sehingga penulis dapat merampungkan tesis yang berjudul Uji Toksisitas Akut Penggunaan Oral Minyak Cengkeh (*Oleum caryophylli*) Terhadap Fungsi Hati dan Ginjal Tikus sebagai salah satu persyaratan untuk menyelesaikan studi di Program Pascasarjana Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin Makassar.

Dalam penulisan tesis ini, mulai dari penelitian, penyusunan tesis hingga penyelesaian tesis penulis menuai berbagai hambatan, namun segala hambatan dan halangan itu dapat penulis lalui berkat bimbingan, dorongan, dukungan, dan perhatian dan kerjasama dari berbagai pihak. Dengan segala kerendahan hati dan keikhlasan hati penulis menyampaikan ucapan terima kasih kepada :

1. Yulia Yusrini Djabir, M.Si., M.BM. Sc., Ph.D., Apt. selaku pembimbing utama dan Prof. Dr. rer. nat. Hj. Marianti Manggau, Apt sebagai pembimbing pertama yang telah banyak meluangkan waktu, tenaga, pikiran dan ilmunya dalam membimbing penulis mulai dari perencanaan hingga selesainya tesis ini.
2. Prof. Dr. Elly Wahyudin Wahyudin, D.E.A, Apt. Dr. Aliyah, M.S., Apt. dan Firzan Nainu, M.Biomed.Sc., Ph.D., Apt. selaku anggota komisi

penguji yang selama ini memberikan banyak masukan dan saran dalam penyempurnaan tesis ini.

3. Seluruh staf Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin Makassar
4. Kedua orang tua penulis, ayahanda H.Abdullahi dan Ibunda Hj.Mariam yang selalu mendoakan, memberikan pengajaran moral dan moril sejak kecil dan terima kasih kepada saudara-saudari penulis yang banyak membantu, memotivasi dan semangat kepada penulis.
5. Rekan-rekan Program Pascasarjana Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin Makassar angkatan 2016 Fityatun Usman S.Si., Apt, Dini Ayu Ariastini S.Si., Apt, Sakiya Syahrir S.Si., Apt, Monadilla Muchran M.Si., Apt, serta seluruh pihak yang membantu dan mendukung, yang tidak dapat penulis sebutkan satu-persatu dalam menyelesaikan tesis ini.

Semoga Allah *subhanahu wa ta'ala* memberikan balasan atas kebaikan yang telah Bapak/Ibu/Saudara berikan dan semoga tesis ini dapat bermanfaat dalam pengembangan ilmu pengetahuan khususnya dalam bidang farmasi klinik dan dapat dijadikan sebagai acuan referensi baik untuk akademisi maupun praktisi dalam bidang farmasi klinik.

Makassar, November 2020

Surya Nengsi

ABSTRAK

SURYA NENGSI. Uji Toksisitas Akut Penggunaan Oral Minyak Cengkeh (*Oleum caryophylli*) Terhadap Fungsi Hati Dan Ginjal Tikus Melalui Analisis Biomarker Darah dan Urin. (Dibimbing oleh Yulia Yusrini Djibir dan Hj. Marianti Manggau).

Minyak cengkeh memiliki potensi antioksidan yang cukup besar namun penggunaan secara oral masih sangat terbatas. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui toksisitas akut minyak cengkeh dosis tinggi terhadap fungsi hati dan ginjal melalui pemeriksaan ALT, AST, kreatinin dan urea, serta untuk mengetahui profil urinalisis tikus yang diberikan minyak cengkeh dosis tinggi selama 7 hari.

Hewan coba dibagi menjadi 4 kelompok: kelompok 1 (kontrol negatif) yang diberikan minyak pembawa, kelompok 2 (minyak cengkeh 1 g/kgBB), kelompok 3 (minyak cengkeh 2 g/kgBB) dan kelompok 4 (minyak cengkeh 5 g/kgBB). Hasil penelitian menunjukkan pemberian 1 g/kgBB minyak cengkeh tidak menyebabkan kematian pada tikus yang diberi perlakuan; namun menginduksi hematuria pada 90% tikus. Pada dosis 2 g/kgBB, pemberian minyak cengkeh menyebabkan kematian tikus (20%) dan beberapa kelainan pada biomarker urin. Pemberian minyak cengkeh dengan dosis 5 g/kgBB menyebabkan 70% kematian pada tikus dan sebagian besar kelainan ditemukan pada biomarker urin. Hasil pemeriksaan ALT, AST, ureum dan kreatinin meningkat signifikan sejalan dengan peningkatan dosis yang diberikan ($p < 0,05$). Perbedaan jenis kelamin tidak menyebabkan perbedaan yang signifikan pada pemeriksaan ALT dan kreatinin, namun pada pemeriksaan AST dan ureum terdapat perbedaan yang signifikan ($p < 0,05$). Disimpulkan bahwa pemberian minyak cengkeh mulai dosis 2 g/kgBB menyebabkan toksisitas akut serta kerusakan hati dan ginjal sehingga tidak aman digunakan secara per oral pada dosis diatas 1 g/kgBB.

Kata kunci : toksisitas akut, minyak cengkeh, urinalisis, AST, ALT, kreatinin, ureum.

ABSTRACT

SURYA NENGSI. Acute oral toxicity evaluation of *clove oil (Oleum caryophyll)* on liver and kidney function of white rats hepatic and renal function through blood and urine biomarker analysis (Supervised by Yulia Yusrini Djabir and Marianti Manggau).

Clove oil has considerable antioxidant potential but its per oral use is still very limited. This study aimed to determine the acute toxicity of high doses of clove oil on liver and kidney function for ALT, AST, creatinine and urea tests, and to determine the urinalysis profile of rats given high doses of clove oil for 7 days.

The experimental animals were divided into 4 groups: group 1 (negative control) corn oil, group 2 (clove oil 1 g / kgbw), group 3 (clove oil 2 g/kgbw) and group 4 (clove oil 5 g/kgbw). The results showed that treatment with 1 g/kgbw of clove oil did not cause death in the treated rats; however it induces hematuria in 90% of rats. At a dose of 2 g/kgbw, administration of clove oil has caused death in rats (20%) and some abnormalities found in urine biomarkers. Clove oil at a dose of 5 g/kgbw caused 70% of deaths in rats and most abnormalities were found in urine biomarkers. ALT, AST, urea and creatinine levels were significantly increased ($p < 0.05$) with the increase of the clove oil doses. There were no significant differences in the ALT and creatinine levels between genders, while the AST and urea levels seemed to be influenced by different sex ($p < 0.05$). It was concluded that clove oil administration starting at the dose of 2 g/kgbw led to acute toxicity as well as liver and kidney damage, hence it is not safe to use orally at a dose above 1 g/kgbw.

Keywords: acute toxicity, clove oil, urinalysis, AST, ALT, creatinine, urea.

DAFTAR ISI

	Halaman
PRAKATA	iv
ABSTRAK	vi
ABSTRACT	vii
DAFTAR ISI	viii
DAFTAR TABEL	xi
DAFTAR GAMBAR	xii
DAFTAR LAMPIRAN	xiii
BAB I PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang	1
B. Rumusan Masalah	4
C. Tujuan Penelitian	4
D. Manfaat Penelitian	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	
A. Klasifikasi Minyak Cengkeh (<i>Oleum caryophylli</i>)	5
B. Minyak Cengkeh (<i>Oleum caryophylli</i>)	5
C. Uji Toksisitas	8
D. Uji Toksisitas <i>In Vitro</i>	9
E. Uji Toksisitas <i>In Vivo</i>	10
F. Uji Toksisitas Akut	11
G. Uji Toksisitas Subkronik	15

H. Uji Toksisitas Kronik	16
I. Kerangka teori Penelitian	17
J. Kerangka Konsep	18
BAB III METODE PENELITIAN	
A. Rancangan penelitian	19
B. Waktu dan Lokasi Penelitian	19
C. Alat dan Bahan Penelitian	19
D. Penyiapan Minyak Cengkeh dan Hewan Coba	20
1. Penyiapan Minyak cengkeh	20
2. Penyiapan Hewan Coba	20
E. Prosedur Penelitian	21
F. Analisis Statistik	22
G. Alur Peneltian	22
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	
A. Gejala klinis dan mortalitas	23
B. Profil Urinalisis	24
C. Hasil Pemeriksaan Enzim Alanine aminotransferase (ALT)	29
D. Hasil Pemeriksaan Enzim Aspartate aminotransferase (AST)	31
E. Hasil pemeriksaan ureum	33
F. Hasil pemeriksaan kreatinin	35
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	
A. Kesimpulan	38
B. Saran	38

DAFTAR PUSTAKA	39
LAMPIRAN	43

DAFTAR TABEL

Nomor	Halaman
1. Kandungan senyawa kimia minyak cengkeh yang berasal dari Indonesia	7
2. Kriteria tingkat ketoksikan suatu bahan berdasarkan LD50 pada hewan coba (Lomis, 1996).	12
3. Profil urinalisis tikus sehat (kontrol) dan yang diberi perlakuan minyak cengkeh 1 g/kgBB, 2g/kgBB dan 5 g/kgBB.	25
4. Perbandingan rata-rata data ALT	29
5. Hasil Uji <i>One Way Anova</i> data ALT berdasarkan faktor jenis kelamin	30
6. Hasil Uji Kruskal Wallis data ALT berdasarkan faktor dosis	30
7. Perbandingan rata-rata data AST	31
8. Hasil Uji <i>Friedman test</i> data AST	32
9. Perbandingan rata-rata data ureum	33
10. Hasil Uji <i>Friedman test</i> data ureum	34
11. Perbandingan rata-rata data kreatinin	35
12. Uji <i>Two Way Anova</i> data kreatinin	37

DAFTAR GAMBAR

Nomor	halaman
1. Jumlah hewan yang bertahan hidup setelah pemberian oral minyak cengkeh dosis 1g/kgBB, 2 g/kgBB dan 5 g/kgBB	24
2. Perbandingan data ALT	29
3. Perbandingan data AST	31
4. Perbandingan data Ureum	34
5. Perbandingan data kreatinin	35
6. Minyak cengkeh (Clove bud [®])	46
7. Penimbangan hewan coba	46
8. Bagian dalam kandang tikus	46
9. Bagian luar kandang tikus	46
10. Pemberian per-oral hewan coba	47
11. Pembiusan hewan coba	47
12. Pengambilan darah hewan coba	47
13. Sampel darah tikus	47
14. Sampel urin tikus	48
15. Strip verify U-120 [®]	48
16. Verify U120 urine analyzer	48
17. Humalyzer 3500 (pengukuran sampel plasma)	48

DAFTAR LAMPIRAN

Nomor	Halaman
1. Sertifikat analisis minyak cengkeh	43
2. Rekomendasi peretujuan etik	44
3. Perhitungan LD ₅₀	45
4. Dokumentasi penelitian	46

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Indonesia memiliki kekayaan sumber daya alam dengan keanekaragaman hayati yang banyak sehingga dikategorikan sebagai biodiversitas yang tinggi, kekayaan sumber daya alamnya memudahkan umat manusia untuk mengolahnya sebagai bahan baku untuk makanan, minuman, obat-obatan dan industri (Sutarno, 2015). Cengkeh (*Syzygium aromaticum*) merupakan tanaman yang tergolong ke dalam keluarga tanaman Myrtaceae pada ordo Myrtales (Razafimamonjison, *et al.*, 2015) yang merupakan tanaman herbal telah lama digunakan di negara-negara Timur Tengah dan Asia. Cengkeh digunakan sebagai obat tradisional dalam penyembuhan berbagai macam penyakit, dan juga penyedap masakan. Rempah-rempah seperti cengkeh telah digunakan selama berabad-abad sebagai bahan pengawet makanan dan sebagai tanaman obat terutama dimanfaatkan karena khasiat antioksidan yang kuat dan aktivitas antimikrobanya (Shan dkk, 2005).

Minyak cengkeh mempunyai sifat kimiawi dan efek farmakologis yang berfungsi sebagai anestetik, antimikrobial, antiseptik (Nurhidayati, 2013), antioksidan, dan imunomodulator (Dehgani *et al*, 2012). Senyawa fenolik daun cengkeh juga bertanggung jawab terhadap aktivitas antioksidan dan senyawa flavonoid yang bertindak sebagai penangkal

radikal bebas (Dibazar et al., 2014). Walaupun demikian, penggunaan oral minyak cengkeh masih terbatas. Saat ini, Organisasi Kesehatan Dunia (WHO) menetapkan bahwa kuantitas harian diterima cengkeh per hari adalah 2,5 mg/kg berat badan pada manusia. Selain itu, berdasarkan penelitian Parle Milind dan Khanna Deepa (2011) dengan judul "*Pro-Cholinergic, Hypo-Cholesteromelic and Memory Improving Effect of Clove*" bahwa serbuk cengkeh yang diberikan peroral tidak bersifat toksik dengan dosis 250 mg/kg dan 2000 mg/kg sehingga perlu adanya penelitian ilmiah lebih lanjut mengenai toksisitas dengan dosis berbeda (Mustapa, dkk 2018).

Toksisitas merupakan istilah dalam toksikologi yang didefinisikan sebagai kemampuan senyawa untuk menyebabkan kerusakan atau injuri. Istilah toksisitas merupakan istilah kualitatif yang terjadi atau tidak terjadinya kerusakan yang tergantung pada jumlah unsur senyawa toksik yang terabsorpsi. Proses pengrusakan ini baru terjadi apabila pada organ target telah telah menumpuk menjadi satu dalam jumlah yang cukup dari bagian toksik atau metabolitnya, begitu pula hal ini bukan berarti bahwa penumpukan yang tertinggi dari agen toksik itu berada di organ target, tetapi bisa juga ditempat lain. Selanjutnya, untuk sebagian besar senyawa toksik pada konsentrasi yang tinggi dalam tubuh akan menimbulkan kerusakan yang lebih banyak. Konsentrasi senyawa toksik dalam tubuh merupakan jumlah racun yang dipaparkan, kemudian berkaitan dengan kecepatan absorpsinya, jumlah yang diserap, dan berhubungan dengan

distribusi, metabolisme maupun ekskresi senyawa toksik tersebut (Mansur, 2008).

Urin merupakan cairan sisa dari hasil metabolisme dalam tubuh yang dibentuk dalam ginjal melalui 3 (tiga) proses yaitu filtrasi oleh glomerulus, reabsorpsi dan sekresi oleh tubulus. Urin merupakan hasil filtrasi glomerulus yang disertai sejumlah air yang dikeluarkan oleh tubuh. Pemeriksaan atau analisis urin sering disebut dengan istilah urinalisis. Urinalisis merupakan bagian paling standar dan penting untuk mengetahui gangguan ginjal dan saluran kemih atau gangguan metabolisme tubuh.

Sebelumnya telah dilakukan beberapa penelitian terkait dosis toksik minyak cengkeh. Penelitian Shalaby menetapkan LD50 penggunaan oral minyak cengkeh pada tikus adalah 3597,5 mg/kg yang masuk dalam kategori sedikit toksik atau *slightly hazardous* menurut WHO (Lomis, 1996). Peneliti lain juga menunjukkan dengan dosis 1000 mg/kg, 2000 mg/kg, dan 5000 mg/kg, minyak cengkeh tidak menimbulkan kematian dan gejala klinis selama 14 hari observasi (Vijayaseltar et al, 2016). Namun, Mustapa dkk (2018) menunjukkan bahwa pemberian minyak cengkeh 3,78 g/kgbb pada tikus dapat menimbulkan gejala toksik secara akut berupa aktifitas jantung menurun, kejang-kejang, terjadi penurunan aktifitas gerak dan nafas melambat. Oleh karena itu, penelitian ini ingin memastikan keamanan pemberian oral minyak cengkeh dengan dosis tinggi (1000 mg/kg, 2000 mg/kg dan 5000 mg/kg) utamanya pada fungsi ginjal dan hati.

B. RUMUSAN MASALAH

Berdasarkan latar belakang tersebut, maka rumusan masalah dalam penelitian ini adalah :

- a. Apakah minyak cengkeh dosis tinggi dapat menyebabkan toksisitas akut pada fungsi hati dan ginjal hewan coba tikus dalam 7 hari.
- b. Apakah minyak cengkeh dosis tinggi dapat menyebabkan kerusakan fungsi metabolisme tikus dalam 7 hari ditinjau dari parameter urinalisis.

C. TUJUAN PENELITIAN

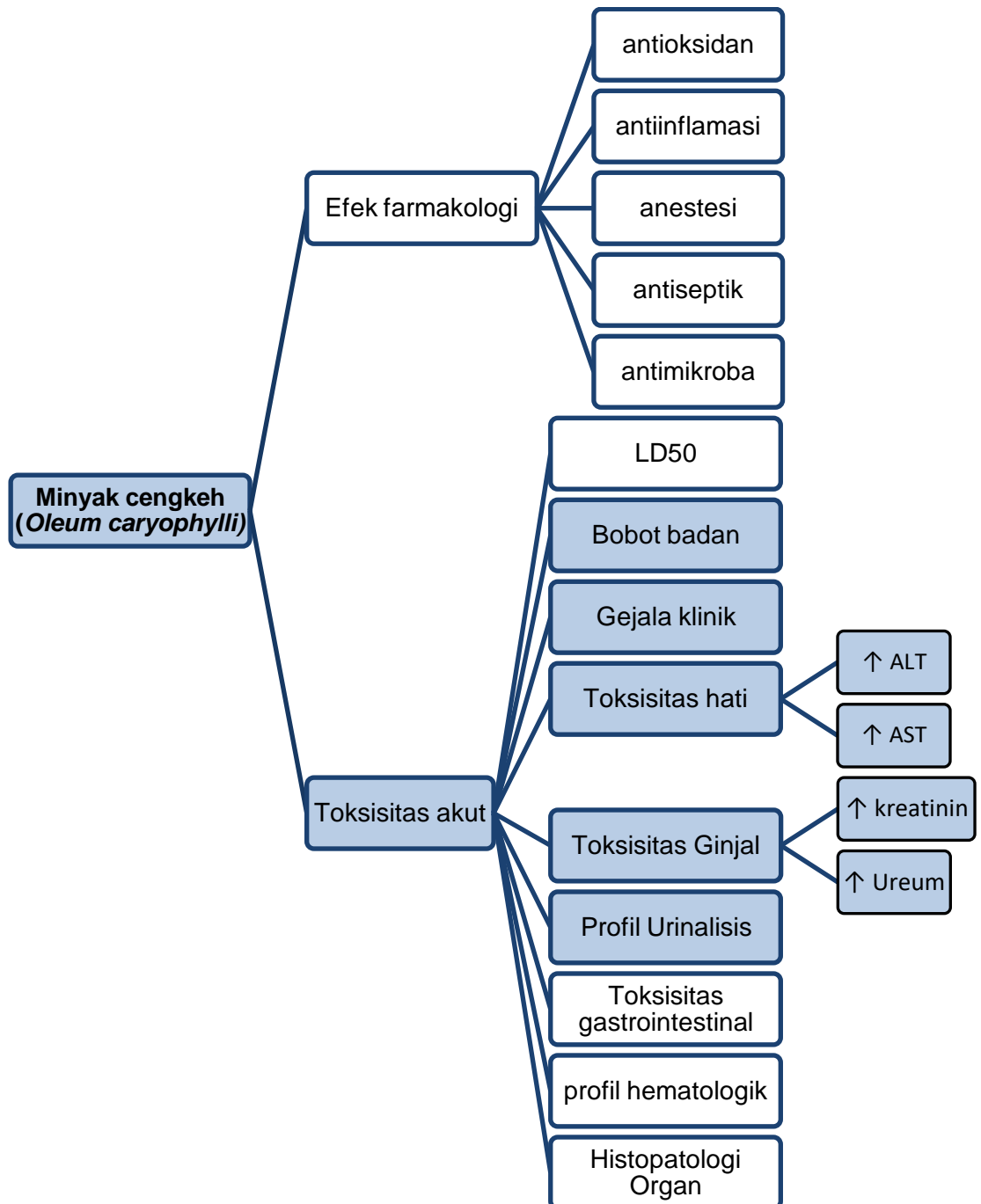
Penelitian ini bertujuan untuk:

1. Mengetahui toksisitas akut minyak cengkeh dosis tinggi terhadap fungsi hati dan ginjal melalui pemeriksaan ALT, AST, kreatinin dan ureum.
2. Mengetahui profil urinalisis tikus yang diberikan minyak cengkeh dosis tinggi selama 7 hari.

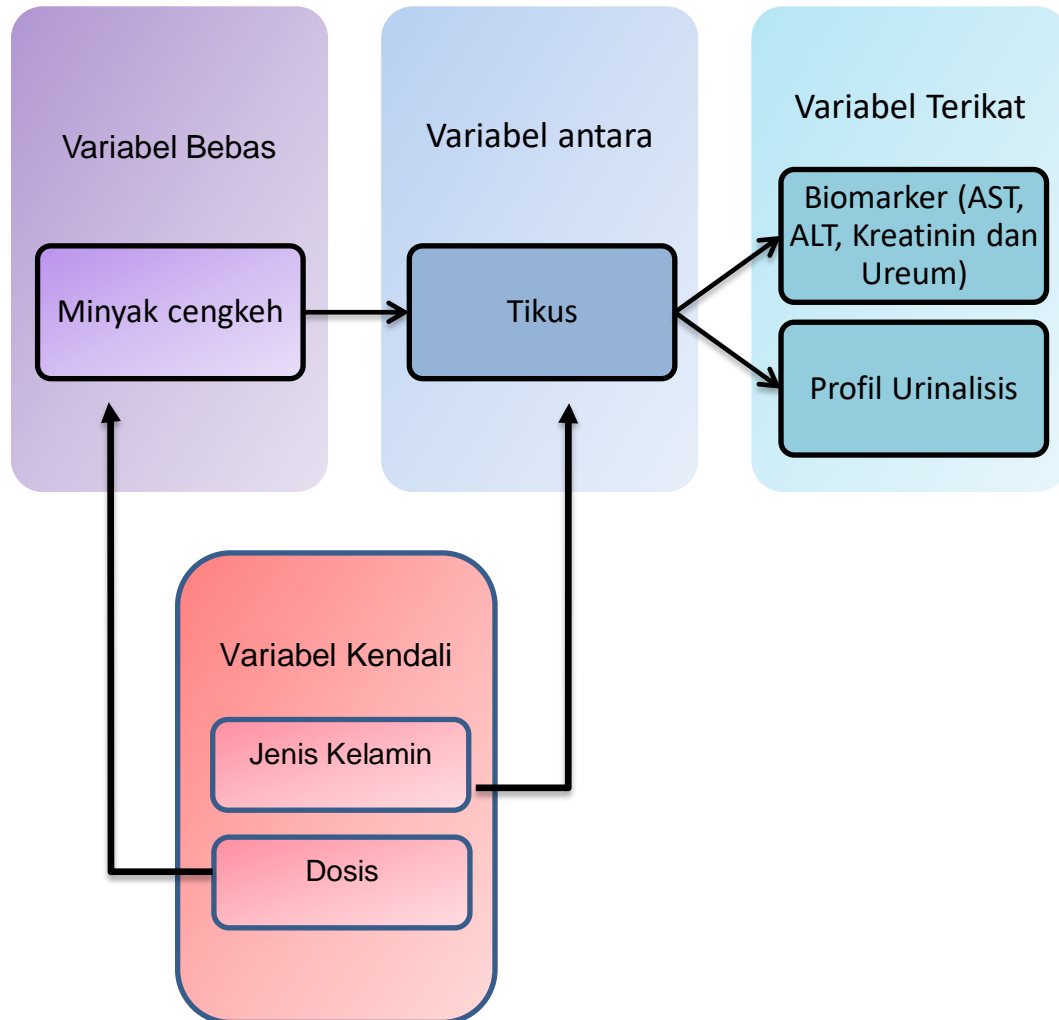
D. MANFAAT PENELITIAN

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi dasar tentang toksisitas minyak cengkeh (*Oleum caryophylli*) pada biomarker darah dan urin pada tikus (*Rattus norvegicus*) dengan mengetahui toksisitas akut minyak cengkeh dosis tinggi terhadap fungsi hati dan ginjal melalui pemeriksaan ALT, AST, kreatinin dan urea, serta untuk mengetahui profil urinalisis tikus yang diberikan minyak cengkeh dosis tinggi selama 7 hari.

A. Kerangka Teori Penelitian



B. Kerangka Konsep



C. Alur penelitian

