

**PENENTUAN LD<sub>50</sub> EKSTRAK ETANOL ANGKAK  
PADA MENCIT (*Mus musculus*)**

**MUSYAHIDAH  
N111 05 606**



SKR-f10  
MUS  
P

**PROGRAM STUDI FARMASI  
FAKULTAS FARMASI  
UNIVERSITAS HASANUDDIN  
MAKASSAR  
2010**

**PENENTUAN LD<sub>50</sub> EKSTRAK ETANOL ANGKAK  
PADA MENCIT (*Mus musculus*)**

**SKRIPSI**

**untuk melengkapi tugas-tugas dan memenuhi  
syarat-syarat untuk mencapai gelar sarjana**

**MUSYAHIDAH  
N111 05 606**

**PROGRAM STUDI FARMASI  
FAKULTAS FARMASI  
UNIVERSITAS HASANUDDIN  
MAKASSAR  
2010**

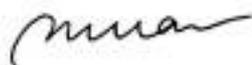
PENENTUAN LD<sub>50</sub> EKSTRAK ETANOL ANGKAK  
PADA MENCIT (*Mus musculus*)

MUSYAHIDAH

N111 05 606

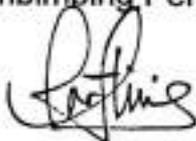
Disetujui Oleh:

Pembimbing Utama,



Prof. Dr. rer-nat Marianti A. Manggau, Apt.  
NIP. 19670319 199203 2 002

Pembimbing Pertama,



Dra. Sartini, M.Si., Apt.  
NIP. 19611111 198703 2 001

Pembimbing Kedua,



Usmar, S.Si., M.Si., Apt.  
NIP. 19710109 199702 1 001

Pada tanggal Mei 2010

## UCAPAN TERIMA KASIH

Puji syukur penulis panjatkan kepada Allah SWT, atas segala rahmat dan hidayah yang senantiasa dilimpahkan kepada seluruh hambanya, shalawat dan salam kepada junjungan kita nabi Muhammad SAW atas izinnya sehingga skripsi ini dapat diselesaikan dengan baik sebagai salah satu syarat dalam mencapai gelar kesarjanaan pada Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin Makassar.

Sungguh banyak kendala yang penulis hadapi dalam rangka penyusunan skripsi ini. Namun, berkat dukungan dan bantuan berbagai pihak, akhirnya penulis dapat melewati kendala-kendala tersebut. Oleh karena itu, penulis dengan tulus menghaturkan banyak terima kasih dan penghargaan yang setinggi-tingginya kepada :

1. Prof.Dr. rer-nat Marianti A. Manggau., Apt., selaku pembimbing utama
2. Dra. Hj.Sartini, M.Si., Apt., selaku pembimbing pertama
3. Usmar, S.Si., M.Si., Apt., selaku pembimbing kedua

Yang telah banyak meluangkan waktu, tenaga, dan pikirannya dalam memberikan petunjuk dan bimbingan yang sangat berharga selama penelitian hingga tersusunnya skripsi ini.

Di kesempatan ini pula, penulis tak lupa menghaturkan terima kasih kepada Dekan Fakultas Farmasi, Prof. Dr. Elly Wahyudin, DEA., M.Si., Apt., Penasehat Akademik, Prof.Dr. H.Faisal Attamimi, MS, juga kepada Bapak dan Ibu Dosen atas ilmu dan bimbingan yang diberikan selama ini dan segenap karyawan dan karyawan Fakultas Farmasi.

Terima kasih yang teristimewa kepada kedua orang tuaku tercinta, Ayahanda Andi Sirajuddin, S.Pd dan Ibunda Marhumi, atas semua doa, dukungan moril dan materil serta pengorbanan yang telah kalian berikan dengan ikhlas dan tulus serta doa yang tiada henti-hentinya hingga selesainya skripsi ini. Untuk saudariku Mir'atul Hayat beserta Suami Andi Alim Ma'sum dan seluruh keluarga besarku untuk motivasi dan dukungan yang telah diberikan kepada penulis selama ini. Semua keberhasilan ini penulis persembahkan untuk kalian.

Terkhusus lagi kepada sahabat-sahabatku Balqis, Hasanah, S.Si, Mirna Merdiana, S.Si, Juniar Safitri, Andi Tenri Wali, Suriani Beddu, Herlina Husain, Ulfa, Andi Tenri Silfasari Atma, S.Si, Rina-Rini, Yusriani, Erna Lia, Andi Ika Rosanti, dan Saiful Anwar terima kasih atas kebersamaan kalian dalam bentuk persaudaraan yang indah. Terima kasih pula buat Edy Kurniawan sekeluarga yang senantiasa membantu dan memberi semangat hingga selesainya skripsi ini, seluruh mahasiswa Farmasi Unhas khususnya teman-teman seperjuangan angkatan 2005, serta semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu-persatu mengingat segala keterbatasan yang penulis miliki.

Penulis sangat menyadari bahwa begitu banyak kesalahan dan kekurangan yang ada dalam penyusunan skripsi ini. Oleh karena itu kritik dan saran yang membangun sangat penulis harapkan demi kesempurnaan tulisan ini.

Akhirnya, semoga karya kecil ini dapat bermanfaat bagi pengembangan ilmu pengetahuan kita mengenai ciptaan-Nya dan keagungan-Nya.

Amin .....

Makassar, Mei 2010

Penulis

## ABSTRAK

Telah dilakukan penelitian toksisitas akut ekstrak etanol angkak yang diberikan secara oral pada mencit. Penelitian ini bertujuan untuk memperoleh gambaran tentang gejala-gejala toksik yang timbul pada mencit setelah pemberian suspensi ekstrak etanol angkak dan untuk menentukan LD<sub>50</sub>-nya. Sebanyak 50 ekor mencit, dibagi dalam 5 kelompok, yaitu 1 kelompok sebagai kontrol diberi larutan Na-CMC 1 % b/v dan 4 kelompok diberi suspensi ekstrak etanol angkak dengan konsentrasi berturut 200, 400, 600, dan 800 mg / 30 g BB. Volume pemberian 1 ml/30 gram bobot badan mencit. Gejala toksik yang diamati adalah penurunan aktivitas gerak, peningkatan laju pernafasan, urinasi, diare, kejang-kejang dan kelumpuhan pada menit ke-5 sampai menit ke-240 sedangkan penentuan LD<sub>50</sub> berdasarkan jumlah mencit yang mati dalam setiap kelompok selama 14 hari. LD<sub>50</sub> berdasarkan hasil perhitungan dengan metode Reed and Muench adalah 16,865 g/kg bobot badan mencit (50,6%) dan termasuk dalam kategori praktis tidak toksik.

## ABSTRACT

The research concerning acute toxicity of ethanol extract of angkak which administered orally to mice had been carried out. The aim of this investigation was to evaluate the toxic symptoms after administration of the ethanol extract angkak and determination of LD<sub>50</sub>. Fifty mice were divided into 5 groups, one group treated as a control group which were given 1 % w/v Sodium CMC, the other groups were treated with the extract at concentration of 200, 400, 600 and 800 mg/30 g body weight. The volume of administration was 1 ml/30 g of mice body weight. The observation of toxic effect based on increasing of respiratory rate, urination, defecation, convulsion, and paralysis in period five until two hundred and forty minutes, while the determination of LD<sub>50</sub> based on the number of dead mice from each group during 14 days. Analysis of toxic effect indicates that the predominant toxic effect was central nervous system stimulation, cholinergic effect, central nervous system depression and muscle relaxation. LD<sub>50</sub> of the ethanol extract is 16.865 g/kg mice body weight (50,6%) on analysis by Reed and Muench method, and its toxicity is categorized as practically non toxic.

## DAFTAR ISI

	Halaman
LEMBAR PENGESAHAN.....	iii
UCAPAN TERIMA KASIH.....	iv
ABSTRAK.....	vii
ABSTRACT.....	viii
DAFTAR ISI.....	ix
DAFTAR TABEL.....	xii
DAFTAR GAMBAR.....	xiii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xiv
BAB I PENDAHULUAN.....	1
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	3
II.1 Angkak.....	3
II.1.1 Proses Pembuatan Angkak.....	3
II.1.2 Kandungan Angkak.....	5
II.1.3 Bahan Bioaktif Angkak.....	6
II.1.4 Manfaat Angkak.....	9
II.2 Ekstrak dan Ekstraksi.....	10
II.2.1 Tujuan Ekstraksi.....	11
II.2.2 Metode Ekstraksi.....	11
II.3 Pengantar Toksikolog.....	16
II.3.1 Uraian Mengenai Toksisitas.....	16

II.3.2 Mekanisme Terjadinya Toksisitas .....	16
II.3.3 Metode Pengujian Toksikologi .....	17
II.3.4 Toksisitas Akut .....	19
II.3.5 Dosis Letal Menengah (LD <sub>50</sub> ) .....	20
II.3.6 Cara Penentuan LD <sub>50</sub> .....	21
II.4 Sistem Saraf .....	22
II.5 Pemilihan Dan Persyaratan Hewan Uji .....	25
<b>BAB III PELAKSANAAN PENELITIAN.....</b>	<b>27</b>
III.1 Alat dan Bahan yang Digunakan .....	27
III.2 Prosedur Kerja.....	27
III.2.1 Penyiapan dan Pengolahan Sampel.....	27
III.2.2 Pembuatan Larutan Koloidal Natrium CMC 1% b/v.....	27
III.2.3 Pembuatan Suspensi Ekstrak Etanol Angkak.....	28
III.3 Pemilihan dan Penyiapan Hewan Uji .....	28
III.4 Perlakuan Pada Hewan Uji.....	29
III.5 Pengamatan .....	29
III.6 Pengumpulan Data.....	30
III.7 Analisis Data .....	30
<b>BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN .....</b>	<b>31</b>
IV.1 Hasil Penelitian .....	31
IV.2. Pembahasan .....	34

BAB V KESIMPULAN DAN SARAN .....	38
V.1 Kesimpulan .....	38
V.2 Saran .....	38
DAFTAR PUSTAKA .....	39
LAMPIRAN .....	42

## DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Hasil Pengamatan Efek Toksik Setelah Pemberian Suspensi EkstrakEtanol Angkak.....	32
2. Perkembangan Bobot Badan Rata-rata Mencit Jantan dan Betina Yang diamati selama 14 hari setelah Pemberian ekstrak etanol angkak.....	33
3. Jumlah Kematian Hewan Uji Mencit Berdasarkan Perbedaan Jenis Kelamin Setelah Pemberian Ekstrak Etanol Angkak.....	34

## DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Mekanisme terjadinya Keracunan.....	17
2. Foto beras merah Angkak.....	50

## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Skema Kerja.....	42
2. Hasil Perhitungan Antara banyaknya efek yang tampak dihubungkan dengan faktor pembobotan masing-masing aktivitas yang diamati.....	43
3. Hubungan Antara Faktor Pembobotan dan Kategori Efek.....	45
4. Perhitungan LD <sub>50</sub> Ekstrak Etanol Angkak menurut metode Reed dan Muench.....	46
5. Analisis statistik pengaruh perbedaan jenis kelamin terhadap kematian hewan uji Mencit.....	48

## BAB I

### PENDAHULUAN

Angkak merupakan suatu produk yang dihasilkan dari fermentasi beras menggunakan *Monascus spp.* Ada 3 spesies utama dari genus *Monascus*, yaitu: *Monascus pilosus*, *Monascus ruber*, dan *Monascus purpureus*, termasuk familia Monascaceae, suku ascomycetes. *Monascus purpureus* adalah kapang utama pada angkak (1,2).

*Monascus spp* dapat mengubah substrat pati menjadi beberapa senyawa metabolit seperti alkohol, senyawa antibiotika, antihipertensi, enzim, asam-asam lemak, asam amino butirat (GABA), Monakolin-K dan beberapa pigmen dan vitamin. Angkak mengandung penghambat enzim HMG CoA reduktase dan komponen-komponen protein, asam amino, sakarida, isoflavon, saponin serta berbagai *trace element* yang mempunyai peran dalam penanggulangan demam berdarah (3).

Angkak secara empiris telah digunakan untuk mengatasi penyakit demam berdarah. Efek ini diyakini karena meningkatnya jumlah trombosit pada pasien demam berdarah. Penelitian pada tikus menunjukkan jumlah trombosit meningkat lebih dari 50% setelah pemberian 0,1 g, peningkatan trombositnya meningkat 2 kalinya (4). Di samping itu, dilaporkan bahwa peningkatan trombosit dari pasien yang diberi air rebusan angkak lebih cepat dibanding pasien yang tidak diberi (5).

Penggunaan langsung serbuk angkak tanpa pengolahan juga mungkin dapat menimbulkan efek samping seperti toksisitas akibat citrinin

## BAB I

### PENDAHULUAN

Angkak merupakan suatu produk yang dihasilkan dari fermentasi beras menggunakan *Monascus spp.* Ada 3 spesies utama dari genus *Monascus*, yaitu: *Monascus pilosus*, *Monascus ruber*, dan *Monascus purpureus*, termasuk familia *Monascaceae*, suku *ascomycetes*. *Monascus purpureus* adalah kapang utama pada angkak (1,2).

*Monascus spp* dapat mengubah substrat pati menjadi beberapa senyawa metabolit seperti alkohol, senyawa antibiotika, antihipertensi, enzim, asam-asam lemak, asam amino butirat (GABA), Monakolin-K dan beberapa pigmen dan vitamin. Angkak mengandung penghambat enzim HMG CoA reduktase dan komponen-komponen protein, asam amino, sakarida, isoflavon, saponin serta berbagai *trace element* yang mempunyai peran dalam penanggulangan demam berdarah (3).

Angkak secara empiris telah digunakan untuk mengatasi penyakit demam berdarah. Efek ini diyakini karena meningkatnya jumlah trombosit pada pasien demam berdarah. Penelitian pada tikus menunjukkan jumlah trombosit meningkat lebih dari 50% setelah pemberian 0,1 g, peningkatan trombositnya meningkat 2 kalinya (4). Di samping itu, dilaporkan bahwa peningkatan trombosit dari pasien yang diberi air rebusan angkak lebih cepat dibanding pasien yang tidak diberi (5).

Penggunaan langsung serbuk angkak tanpa pengolahan juga mungkin dapat menimbulkan efek samping seperti toksisitas akibat citrinin

yang terkandung dalam angkak. Citrinin ini dilaporkan bersifat toksik dan dapat mempengaruhi kerja ginjal dan hati (6).

Sehubungan dengan hal di atas, untuk menjamin keamanan penggunaan angkak (*Monascus purpureus*), maka telah dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai uji toksisitas akut yang meliputi pengamatan efek toksik yang timbul setelah pemberian oral pada hewan coba dan penentuan dosis yang dapat mematikan 50% hewan percobaan ( $LD_{50}$ ) sehingga dapat memberikan informasi kepada masyarakat tentang batas keamanannya.

Penelitian ini dimaksudkan untuk mengetahui toksisitas akut dari ekstrak etanol angkak yang dicobakan pada mencit (*Mus musculus*) sehingga diketahui efek toksik setelah pemberian suspensi ekstrak etanol angkak dan penentuan  $LD_{50}$ nya. Adapun tujuannya yaitu untuk memberikan gambaran data sebagai dasar untuk menentukan dosis yang aman sehingga dapat dihindari terjadinya efek toksik pada penggunaannya sebagai obat tradisional.

## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### II.1 Angkak

##### II.1.1 Proses Pembuatan Angkak (8, 9,10,11)

Angkak atau beras merah fermentasi adalah hasil fermentasi beras dengan menggunakan kapang merah yaitu *Monascus sp.*, berasal dari negara Cina. Pembuatan pertama kali dilakukan oleh Dinasti Ming yang berkuasa pada abad ke-14 sampai abad ke-17. Beberapa spesies kapang telah digunakan untuk memproduksi angkak diantaranya adalah *Monascus Purpureus*, *Monascus pilosus*, *Monascus rubropunctatus*, *Monascus rubriquosus* dan *Monascus anka*. Dari sekian jenis *Monascus* ini, yang paling sering digunakan pada pembuatan angkak adalah *Monascus purpureus*.

Secara sederhana, proses pembuatan angkak sebenarnya hampir sama dengan proses pembuatan beberapa produk fermentasi tradisional seperti tape dan tempe. Namun selain penggunaan mikroba yang berbeda, kontrol terhadap proses perlu dilakukan secara lebih baik. Kontrol terhadap proses fermentasi perlu dilakukan secara lebih ketat karena mikroba yang digunakan harus merupakan kultur tunggal, berbeda dengan penggunaan ragi pada pembuatan tempe atau tape yang umumnya dilakukan dengan kultur campuran.

Sebagaimana umumnya proses fermentasi, proses pembuatan angkak yang dimulai dari penyiapan inokulum sampai proses inkubasi

harus dilakukan secara aseptik. Adanya kontaminasi atau pertumbuhan mikroba lain harus dihindari karena selain akan menyebabkan terbentuknya senyawa lain yang tidak diinginkan, juga bisa mengubah arah fermentasi.

Prosedur pembuatan beras merah angkak pada skala laboratorium telah dikembangkan oleh Wan dan Hasseltin (12). Mula-mula beras dicuci dan direndam dalam air selama 24 jam, kemudian ditiriskan dan dikeringkan dengan seksama. Beras ditempatkan pada beaker atau wadah lain yang sesuai dan cukup luas untuk memberikan ruang bagi udara di atas beras. Kemudian ditutup dengan penyaring dan dipanaskan dalam autoklaf selama 30 menit pada temperatur 121°C, dinginkan dan inokulasikan dengan suspensi air steril dari askopora yang dipindahkan dari *Monascus purpureus* yang telah ditumbuhkan selama 25 hari pada sabouraud's agar. Setelah suspensi dicampur rata pada beras, campuran diinkubasi pada suhu 25-32°C selama 10-14 hari. Pada waktu inokulasi beras akan kelihatan agak kering, tapi keadaan ini adalah satu dari rahasia untuk memproduksi angkak yang baik. Beras seharusnya tidak boleh basah atau seperti bubur. Dalam 3 hari beras sudah mulai memerah. Pada waktu ini, beras harus diaduk dan dikocok untuk mendistribusikan beras ditengah dan bawah fermentasi untuk mempertahankan kelembaban pada permukaan. Penambahan sejumlah air steril diisyaratkan dari waktu ke waktu untuk menggantikan kelembaban yang hilang. Dalam 3 minggu, beras menjadi merah

keunguan dimana setiap biji beras tidak berdempetan dengan yang lainnya. Beras kemudian dikeringkan di oven pada suhu 40°C.

Produksi angkak di Taiwan dilakukan dengan cara menumbuhkan kultur *Monascus purpureus* pada substrat beras atau potongan-potongan roti berukuran 1 cm tiap potongan, disterilkan dan diinkubasi pada suhu 33°C selama 10 hari (13).

Untuk produksi angkak yang lain dikenal sebagai "chu kong tsaw" yang terdiri atas kapang *Monascus purpureus* dan ragi *Saccharomyces formosensis*. Inokulum ini ditumbuhkan pada campuran beras ketan dan anggur beras diinkubasi pada suhu 33°C selama 12-15 hari.

Produksi angkak di Thailand diterangkan oleh Sooksan dan Gongsakdi (14). Beras disterilkan dan diinokulasikan dengan suspensi askospora dari *Monascus purpureus* dalam air. Inkubasi dilakukan pada suhu 27°C. Selama inkubasi dapat ditambahkan 40% air steril. Penambahan air ini untuk mempertahankan kelembaban sampai jaringan bagian dalam beras berwarna merah.

### **II.1.2 Kandungan Angkak (11,15)**

Metabolit yang terbentuk selama proses fermentasi seperti monascin, ankaflavin, rubropunctatin, monascorubin, dan monascorubramin yang merupakan pigmen warna. Selain itu proses fermentasi juga menghasilkan beberapa senyawa metabolit sekunder seperti monakolin K yang identik dengan lovastatin dan mevinolin serta senyawa monakolin lainnya. Akira Endo sebagaimana yang dituliskan oleh

Nasronudin (16) mendeskripsikan senyawa-senyawa monakolin lainnya tersebut sebagai monakolin M, monakolin X, serta dihydromonakolin L. Beberapa peneliti lain menamai senyawa-senyawa monakolin lain tersebut sebagai monakolin I-IV.

Dari hasil penelitian yang dilakukan penulis dan rekan-rekan di pusat Bioteknologi-LIPI, selain diketahui menghasilkan senyawa monakolin K atau lovastatin, proses fermentasi yang dilakukan dengan menggunakan kapang *Monascus purpureus* juga menghasilkan metabolit sekunder dari golongan statin lainnya termasuk atarvostatin, mevastatin, dan simvastatin.

*Monascus purpureus* juga mengandung asam lemak tak jenuh seperti asam oleat, asam linoleat, asam linoleat serta Vitamin B-kompleks seperti niasin yang bermanfaat dalam penurunan kadar trigliserida dan meningkatkan HDL. Komponen lain adalah beta-sitosterol, campesterol, stigmassterol, saponin, sapogenin, isoflavon, isoflavon glikosida, selenium serta seng.(16)

### **II.1.3 Bahan Bioaktif Angkak (17)**

Secara praktis dalam fermentasi beras oleh *Monascus purpureus* berlangsung selama 14 hari sampai media beras putih berwarna merah kecoklatan dan pigmen kuning tidak teramati. Pigmentasi ini teranalisis berkaitan masing-masing dengan produksi atau kandungan bahan bioaktif lovastatin dan citrinin. Kedua bahan bioaktif ini bagai madu dan racun. Lovastatin banyak berperan dan dimanfaatkan dalam pengobatan

biomedis seperti penyakit kardiovaskular sedangkan citrinin adalah bahan toksik.

### 1. Lovastatin

Lovastatin atau dikenal juga dengan monacolins 3-hydroxy-3-methylglutarylcoenzyme A yang merupakan inhibitor dalam biosintesis kolesterol. Karakter ini telah dimanfaatkan dalam terapi hiperkolesterolemia, aterosklerosis, tekanan darah tinggi dan jantung. Lovastatin sebagaimana statin lainnya berperan penting sebagai antioksidan untuk pencegahan dan terapi penyakit hipertensi dan jantung. Statin berperan dalam terapi rematik arthritis dan pembentukan tulang. Statin juga memperlihatkan potensinya dalam menghambat perkembangan penyakit diabetes dan penyakit degeneratif seperti Alzheimer.

Studi keragaman isolat *Monascus purpureus* menunjukkan bahwa dari 19 isolat *Monascus purpureus* dari Jawa Timur menunjukkan adanya keunikan genetik dan variasi potensi produksi lovastatin 0,2%-1,0%. Berbeda dengan citrinin, kadar lovastatin teranalisis berkorelasi dengan pigmen merah. Konfirmasi analisis genetik menunjukkan bahwa keragaman isolat tersebut dalam memproduksi lovastatin berkaitan erat dengan ekspresi gen *lovB* yang bertanggung jawab untuk biosintesis lovastatin.

biomedis seperti penyakit kardiovaskular sedangkan citrinin adalah bahan toksik.

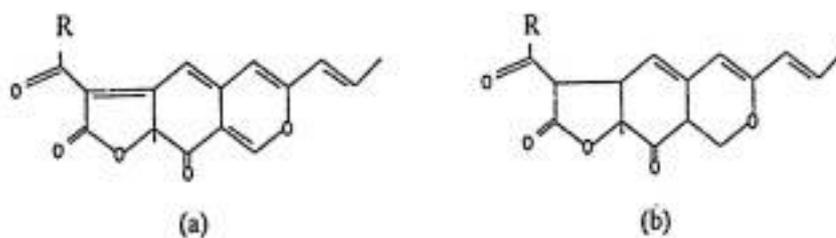
### 1. Lovastatin

Lovastatin atau dikenal juga dengan monacolins 3-hydroxy-3-methylglutarylcoenzyme A yang merupakan inhibitor dalam biosintesis kolesterol. Karakter ini telah dimanfaatkan dalam terapi hiperkolesterolemia, aterosklerosis, tekanan darah tinggi dan jantung. Lovastatin sebagaimana statin lainnya berperan penting sebagai antioksidan untuk pencegahan dan terapi penyakit hipertensi dan jantung. Statin berperan dalam terapi rematik arthritis dan pembentukan tulang. Statin juga memperlihatkan potensinya dalam menghambat perkembangan penyakit diabetes dan penyakit degeneratif seperti Alzheimer.

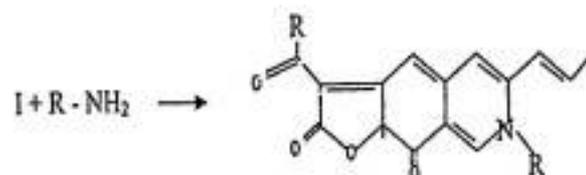
Studi keragaman isolat *Monascus purpureus* menunjukkan bahwa dari 19 isolat *Monascus purpureus* dari Jawa Timur menunjukkan adanya keunikan genetik dan variasi potensi produksi lovastatin 0,2%-1,0%. Berbeda dengan citrinin, kadar lovastatin teranalisis berkorelasi dengan pigmen merah. Konfirmasi analisis genetik menunjukkan bahwa keragaman isolat tersebut dalam memproduksi lovastatin berkaitan erat dengan ekspresi gen *lovB* yang bertanggung jawab untuk biosintesis lovastatin.

## 2. Pigmen Warna Angkak (21)

Komponen utama dari warna. *Monascus sp* Adalah pigmen merah monascorubin dan rubiopunctatin serta pigmen kuning monacin ankaflavin dan monascoflavin, serta pigmen ungu rubropuntamine dan monascorubramine. Hal ini menjelaskan bahwa kebanyakan strain memberikan warna merah jingga kecuali strain tertentu dimana pigmennya mengandung lebih banyak komponen merah, sehingga memberikan warna merah yang lebih terang. Struktur dan pewarna ini ditunjukkan pada gambar 1. Dalam bentuk ini pigmen berwarna jingga tetapi dengan cepat bereaksi dengan molekul yang mengandung gugus amino untuk membentuk senyawa berwarna merah yang strukturnya digambarkan pada gambar 2. (21)



Gambar 1. Rumus struktur pigmen monascus (a)  $R=nC_9H_{11}$ , monasin;  $R=nC_7H_{15}$ , ankaflavin (b)  $R=nC_9H_{11}$ , rubropunctatin;  $R=nC_7H_{15}$ , monascorubin



Gambar 2. Rumus Struktur pigmen pada monascus,  $R$ =radikal alifatik,  $R'$ = radikal dari  $R'-NH_2$

### 3. Citrinin

Citrinin adalah bahan bioaktif dari *Monascus purpureus* yang harus dihindari karena merupakan racun yang mempengaruhi kerja ginjal dan hati. Citrinin terdapat lebih banyak pada ekstrak lipid dari *Monascus purpureus*, dimana 1,8 mg/ml ekstrak tersebut setara dengan dosis LD<sub>50</sub> citrinin(18). Citrinin juga dilaporkan mempunyai aktivitas anti bakteri gram positif. Namun citrinin ini ternyata labil terhadap panas sehingga pemanasan 90°C selama 15-30 menit cukup dapat mereduksi citrinin (19).

Didalam metabolisme ternyata bahan baku biosintesis pigmen merah dan citrinin adalah sama yaitu tetraketida. Jadi bila bahan baku tersebut disintesis lebih untuk pigmen merah maka peluang untuk produksi citrinin menjadi lebih rendah.

Secara praktis, untuk menghindari resiko keracunan citrinin dalam pemanfaatan beras fermentasi *Monascus purpureus*, hindari yang berwarna lebih kuning dan ekstraksi dengan mendidihkan beras tersebut untuk mereduksi kadar citrinin dan mendapatkan ekstrak air, bukan ekstrak lipid dimana sebagian citrinin berada.

#### II.1.4 Manfaat Angkak (9,11,20)

Beberapa penelitian telah dilakukan untuk menguji manfaat dari angkak. Angkak selain dapat menghambat produksi kolesterol dalam tubuh juga berkhasiat untuk menurunkan tekanan darah tinggi, meningkatkan jumlah trombosit darah sehingga seringkali digunakan

dalam proses pengobatan demam berdarah, memperlancar dan menstabilkan darah.

Dalam teks tradisioanal *The Ancient Chinese Pharmacopoeia* disebutkan bahwa angkak digunakan sebagai obat untuk melancarkan pencernaan. Selain pemanfaatan untuk terapi, angkak dengan pigmen warnanya digunakan dalam proses pengolahan makanan baik sebagai pembangkit warna, dan sebagai pembangkit rasa maupun sebagai pengawet. Pigmen angkak cukup aman digunakan dalam makanan, dapat mengurangi penggunaan nitrat dalam memperbaiki warna merah daging olahan seperti sosis dan ham daging sapi, serta penghambatan bakteri patogen dan perusakakn berspora *Bacillus cereus* dan *Bacillus stearothermophilis*.

## II.2 Ekstrak dan Ekstraksi

Ekstrak adalah sediaan kering, kental atau cair dibuat dengan menyari simplisia nabati atau hewani menurut cara yang cocok, diluar pengaruh cahaya matahari langsung (22).

Ekstraksi adalah penyarian zat-zat berkhasiat atau zat-zat aktif dari bagian tanaman obat, hewan dan beberapa jenis ikan termasuk biota laut. Zat-zat aktif tersebut terdapat di dalam sel, namun sel tanaman dan hewan berbeda demikian pula ketebalannya, sehingga diperlukan metode ekstraksi dan pelarut tertentu dalam mengekstraksinya (23).

### **II.2.1 Tujuan Ekstraksi**

Tujuan ekstraksi adalah untuk menarik dan memisahkan senyawa yang mempunyai kelarutan berbeda-beda dalam berbagai pelarut komponen kimia yang terdapat dalam bahan alam baik dari tumbuhan, hewan, dan biota laut dengan menggunakan pelarut organik tertentu. Proses ekstraksi ini didasarkan pada kemampuan pelarut organik untuk menembus dinding sel dan masuk ke dalam rongga sel secara osmosis yang mengandung zat aktif. Zat aktif akan larut dalam pelarut organik dan karena adanya perbedaan konsentrasi antara di dalam dan di luar sel, mengakibatkan terjadinya difusi pelarut organik yang mengandung zat aktif keluar sel. Proses ini berlangsung terus menerus sampai terjadi keseimbangan konsentrasi zat aktif di dalam dan di luar sel (23, 24).

### **II.2.2 Metode Ekstraksi (25)**

Cara penyarian atau ekstraksi dapat dibedakan menjadi infudasi, maserasi, perkolasi, soxhletasi dan refluks. Dari keempat cara tersebut sering dilakukan modifikasi untuk memperoleh hasil yang lebih baik.

#### **1. Infus**

Infus adalah sediaan cair yang dibuat dengan menyari simplisia dengan air pada suhu  $90^{\circ}$  C selama 15 menit. Infudasi adalah proses penyarian yang umumnya digunakan untuk menyari zat kandungan aktif yang larut dalam air dari bahan-bahan nabati. Penyarian dengan cara ini menghasilkan sari yang tidak stabil dan mudah tercemar oleh kuman dan

kapang. Oleh sebab itu sari yang diperoleh dengan cara ini tidak boleh disimpan lebih dari 24 jam.

Cara pembuatan infus: simplisia yang telah dihaluskan sesuai dengan derajat kehalusan yang ditetapkan dicampur dengan air secukupnya dalam sebuah panci. Kemudian dipanaskan di dalam panci mencapai  $90^{\circ}\text{C}$ , sambil sekali-sekali diaduk. Infus diserukai sewaktu masih panas melalui kain flanel. Untuk mencukupi kekurangan air ditambahkan air mendidih melalui ampasnya.

## 2. Maserasi

Maserasi merupakan cara penyarian yang sederhana. Maserasi dilakukan dengan cara merendam serbuk simplisia dalam cairan penyari. Cairan penyari akan menembus sel yang mengandung zat aktif, zat aktif akan larut karena adanya perbedaan konsentrasi antara larutan zat aktif di dalam sel dan diluar sel, maka larutan yang pekat terdesak untuk keluar. Peristiwa tersebut berulang sehingga terjadi keseimbangan konsentrasi antara larutan diluar sel dan didalam sel. Maserasi digunakan untuk penyarian simplisia yang mengandung zat aktif yang mudah larut dalam cairan penyari tidak mengandung zat yang mudah mengembang dalam cairan penyari. Keuntungan cara penyarian dengan maserasi adalah pengerjaan dan peralatan yang digunakan sederhana dan mudah untuk memperolehnya.

Pada penyarian dengan cara maserasi perlu dilakukan pengadukan. Pengadukan diperlukan untuk meratakan konsentrasi larutan

diluar butir seerbuk simplisia sehingga dengan pengadukan tersebut tetap terjaga adanya derajat perbedaan konsentrasi yang sekecil-kecilnya antara larutan di dalam sel dengan larutan di luar sel. Hasil penyaringan dengan cara maserasi perlu dibiarkan selama waktu tertentu. Waktu tersebut diperlukan untuyk mengendapkan zat-zat yang tidak diperlukan tetapi ikut terlarut dalam cairan penyari.

Maserasi dapat dilakukan modifikasi misalnya :

1. Digesti

Digesti adalah cara maserasi dengan menggunakan pemanasan lemah, yaitu pada suhu  $40^{\circ}$ - $50^{\circ}$  C. cara maserasi ini hanya dapat dilakukan untuk simplisia yang zat aktifnya tahan terhadap pemanasan.

2. Maserasi dengan mesin pengaduk

Penggunaan mesin pengaduk yang berputar terus menerus waktu proses maserasi dapat dipersingkat menjadi 6 sampai 24 jam.

3. Remaserasi

Cairan penyari dibagi 2. Seluruh serbuk simplisia dimaserasi dengan cairan penyari pertama, sesudah dienap tuangkan dan diperas, ampas dimaserasi lagi dengan cairan penyari kedua.

4. Perkolasi

Perkolasi adalah cara penyarian yang dilakukan dengan mengalirkan cairan penyari melalui serbuk simplisia yang telah dibasahi. Prinsip perkolasi adalah sebagai berikut: serbuk simplisia

ditempatkan dalam suatu bejana silinder, yang bagian bawahnya diberi sekat berpori. Cairan penyari dialirkan dari atas ke bawah melalui serbuk tersebut, cairan penyari akan melarutkan zat aktif sel yang dilalui sampai mencapai keadaan jenuh. Gerak ke bawah disebabkan oleh kekuatan gaya beratnya sendiri dan cairan di atasnya, dikurangi dengan daya kapiler yang cenderung untuk menahan.

Perkolasi umumnya dilakukan dengan cara: simplisia atau bahan yang diekstraksi secara perkolasi diserbuk dengan derajat halus yang sesuai dan ditimbang kemudian dimaserasi selama 3 jam, kemudian massa dipindahkan ke dalam percolator dan cairan penyari ditambahkan hingga selapis di atas permukaan bahan, didiamkan selama 24 jam. Setelah itu kran percolator dibiarkan menetes dengan kecepatan 1 ml per menit. Cairan penyari ditambahkan secara kontinu hingga penyarian sempurna. Perkolat yang diperoleh dikumpulkan, dipekatkan dan dilakukan pengujian selanjutnya.

#### 5. Soxhletasi

Sampel atau bahan yang akan diekstraksi terlebih dahulu diserbukkan dan ditimbang, kemudian dimasukkan ke dalam klonsong yang telah dilapisi kertas saring sedemikian rupa (tinggi sampel dalam klonsong tidak boleh lebih dari pipa sifon). Selanjutnya labu alas bulat diisi dengan cairan penyari yang sesuai kemudian ditempatkan di atas water bath atau heating mantel dan diklem dengan kuat kemudian klonsong

ditempatkan dalam suatu bejana silinder, yang bagian bawahnya diberi sekat berpori. Cairan penyari dialirkan dari atas ke bawah melalui serbuk tersebut, cairan penyari akan melarutkan zat aktif sel-sel yang dilalui sampai mencapai keadaan jenuh. Gerak ke bawah disebabkan oleh kekuatan gaya beratnya sendiri dan cairan di atasnya, dikurangi dengan daya kapiler yang cenderung untuk menahan.

Perkolasi umumnya dilakukan dengan cara: simplisia atau bahan yang diekstraksi secara perkolasi diserbuk dengan derajat halus yang sesuai dan ditimbang kemudian dimaserasi selama 3 jam, kemudian massa dipindahkan ke dalam percolator dan cairan penyari ditambahkan hingga selapis di atas permukaan bahan, didiamkan selama 24 jam. Setelah itu kran percolator dibiarkan menetes dengan kecepatan 1 ml per menit. Cairan penyari ditambahkan secara kontinu hingga penyarian sempurna. Perkolat yang diperoleh dikumpulkan, dipekatkan dan dilakukan pengujian selanjutnya.

#### 5. Soxhletasi

Sampel atau bahan yang akan diekstraksi terlebih dahulu diserbukkan dan ditimbang, kemudian dimasukkan ke dalam klonsong yang telah dilapisi kertas saring sedemikian rupa (tinggi sampel dalam klonsong tidak boleh lebih dari pipa sifon). Selanjutnya labu alas bulat diisi dengan cairan penyari yang sesuai kemudian ditempatkan di atas water bath atau heating mantel dan diklem dengan kuat kemudian klonsong

yang telah diisi sampel dipasang pada labu alas bulat yang dikuatkan dengan klem dan cairan penyari ditambahkan untuk membasahkan sampel yang ada dalam klonsong. Setelah itu kondensor dipasang tegak lurus dan diklem pada statif dengan kuat. Aliran air dan pemanas dijalankan hingga terjadi proses ekstraksi zat aktif sampai sempurna. Ekstrak yang diperoleh dikumpulkan dan dipekatkan dengan alat rotavapor.

#### 6. Refluks

Simplisia yang biasa diekstraksi dengan metode refluks adalah yang mempunyai komponen kimia yang tahan terhadap pemanasan dan mempunyai tekstur yang keras seperti akar, batang, buah atau biji dan herba.

Sampel atau bahan yang diekstraksi ditimbang kemudian dimasukkan ke dalam labu alas bulat dan diisi dengan cairan penyari yang sesuai sampai serbuk simplisia terendam kurang lebih  $\frac{2}{3}$  volume labu kemudian labu alas bulat dipasang kuat pada statif dan ditempatkan di atas water bath atau heating mantel lalu dipasang kondensor pada labu alas bulat yang dikuatkan dengan klem pada statif. Aliran air dan pemanas dijalankan sesuai dengan suhu pelarut yang digunakan. Setelah 4 jam dilakukan penyaringan, filtrate ditampung dalam wadah penampung dan ampasnya ditambah lagi dengan pelarut dan dikerjakan seperti semula. Ekstraksi dilakukan selama 3-4 jam.

## **II.3 Pengantar Toksikologi**

### **II.3.1 Uraian mengenai Toksisitas**

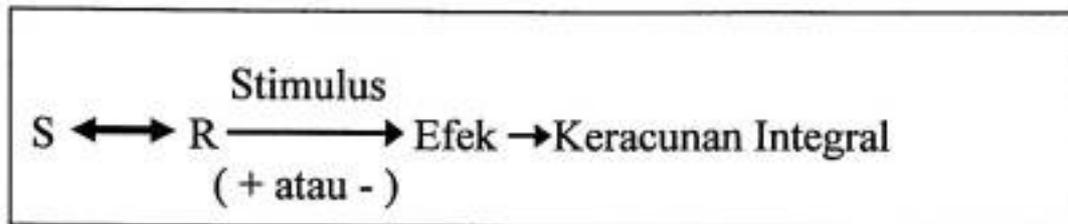
Toksisitas adalah efek berbahaya dari suatu bahan kimia atau suatu obat pada organ target. Setiap zat kimia pada dasarnya bersifat racun dan terjadinya keracunan ditentukan oleh dosis dan cara pemberian. Paracelsus (1564) telah meletakkan dasar penilaian toksikologi dengan mengatakan bahwa dosis menentukan apakah suatu zat kimia adalah racun. Tetapi sekarang dikenal banyak faktor yang menentukan apakah suatu zat kimia bersifat racun, namun dosis tetap merupakan faktor utama yang terpenting. Untuk setiap zat kimia, termasuk air, dapat ditentukan dosis kecil yang tidak berefek sama sekali, atau suatu dosis besar sekali yang dapat menimbulkan keracunan dan kematian (26,15).

Jarang terdapat suatu obat yang hanya memiliki satu jenis efek, hampir semua obat mempunyai efek tambahan dan mampu mempengaruhi fungsi berbagai macam alat dan faal tubuh. Efek yang menonjol, biasanya digunakan sebagai pegangan dalam menentukan penggunaannya, sedangkan perubahan lain merupakan efek samping yang bahkan dapat bersifat toksik (15).

### **II.3.2 Mekanisme terjadinya Toksisitas**

Semua keracunan mempunyai dasar suatu reaksi antara zat beracun dan struktur molekul tertentu dari badan. Kerusakan primer pada taraf molekuler disebut lesi primer. Reseptornya berupa struktur molekuler

yang dikenai zat dirubah oleh zat beracun, umpamanya dengan oksidasi atau dengan pengikatan diri zat pada reseptornya. Perubahan reseptor merupakan stimulus untuk terjadinya efek. Stimulus ini dapat positif atau negatif (19).



Gambar 1. Mekanisme keracunan. Hubungan  $S \rightarrow R$  menggambarkan reaksi suatu zat dan reseptor (Sumber : Koeman, JH, 1987. *Pengantar Umum Toksikologi*, Terjemahan Yudono RH, Gadjah Mada University Press. Yogyakarta, hal.35).

Efek terjadi pada taraf subselluler atau seluler. Bila dosis yang diserap relatif kecil, kerusakannya dapat terbatas pada beberapa sel saja. Masih cukup banyak sel yang sehat untuk dapat tetap menjalankan fungsi normal organ. Jika relatif banyak sel yang menderita, organ tersebut sudah tidak dapat lagi memenuhi fungsinya yang normal. Pada waktu itu biasanya keracunan (kerja toksik) menampakkan diri, umumnya sebagai proses penyakit yang integral pada individu itu. Proses keracunan itu berpindah secara berurutan dari taraf molekuler ke taraf yang lebih tinggi integrasi biologis (27).

### II.3.3 Metode Pengujian Toksikologi

Pada umumnya metode pengujian toksikologi dibagi menjadi dua golongan, yaitu :

1. Golongan pertama terdiri dari uji toksikologi yang dirancang untuk mengevaluasi keseluruhan efek umum suatu senyawa pada hewan uji. Uji- uji ini terdiri dari:
  - a. Uji toksisitas akut yaitu pemberian suatu senyawa kepada hewan uji pada suatu saat dengan maksud untuk menentukan suatu gejala sebagai akibat dari pemberian suatu senyawa dan untuk menentukan nilai LD50 senyawa tersebut.
  - b. Uji toksisitas sub kronis adalah uji toksikologi yang bertujuan untuk mengevaluasi segala efek senyawa apabila senyawa tersebut diberikan kepada hewan uji secara berulang-ulang, biasanya sekali sehari selama tiga sampai empat bulan.
  - c. Uji toksisitas kronis adalah suatu uji toksikologi yang membutuhkan waktu yang lebih lama , biasanya tidak kurang dari satu tahun dan sebelum suatu zat kimia baru dipertimbangkan untuk studi toksisitas kronis, maka informasi toksisitasnya dan dosis letalnya harus sudah diketahui.
2. Golongan kedua terdiri dari uji toksikologi yang dirancang untuk mengevaluasi dengan rinci tipe toksisitas spesifik, yaitu:
  - a. Uji potensi adalah uji toksisitas yang menentukan efek suatu zat dengan adanya zat-zat tambahan yang mungkin secara bersama-sama dijumpai, dimana toksisitas dari satu zat atau yang lain diperkuat.

1. Golongan pertama terdiri dari uji toksikologi yang dirancang untuk mengevaluasi keseluruhan efek umum suatu senyawa pada hewan uji. Uji- uji ini terdiri dari:
  - a. Uji toksisitas akut yaitu pemberian suatu senyawa kepada hewan uji pada suatu saat dengan maksud untuk menentukan suatu gejala sebagai akibat dari pemberian suatu senyawa dan untuk menentukan nilai LD50 senyawa tersebut.
  - b. Uji toksisitas sub kronis adalah uji toksikologi yang bertujuan untuk mengevaluasi segala efek senyawa apabila senyawa tersebut diberikan kepada hewan uji secara berulang-ulang, biasanya sekali sehari selama tiga sampai empat bulan.
  - c. Uji toksisitas kronis adalah suatu uji toksikologi yang membutuhkan waktu yang lebih lama , biasanya tidak kurang dari satu tahun dan sebelum suatu zat kimia baru dipertimbangkan untuk studi toksisitas kronis, maka informasi toksisitasnya dan dosis letalnya harus sudah diketahui.
2. Golongan kedua terdiri dari uji toksikologi yang dirancang untuk mengevaluasi dengan rinci tipe toksisitas spesifik, yaitu:
  - a. Uji potensi adalah uji toksisitas yang menentukan efek suatu zat dengan adanya zat-zat tambahan yang mungkin secara bersama-sama dijumpai, dimana toksisitas dari satu zat atau yang lain diperkuat.

- b. Uji teratogenik adalah uji toksisitas untuk menentukan efek terhadap janin atau fetus pada hewan bunting.
- c. Uji reproduksi yaitu uji toksisitas untuk menentukan efek atas kemampuan reproduktif hewan eksperimental.
- d. Uji mutagenik yaitu uji toksisitas untuk menentukan efek pada sistem kode genetika.
- e. Uji kemampuan tumorigenisitas adalah uji toksisitas untuk menentukan kemampuan zat untuk menimbulkan tumor.
- f. Uji kulit dan mata yaitu uji toksisitas untuk menentukan efek lokal zat bilamana zat-zat dipakai secara langsung pada kulit dan mata.
- g. Uji perilaku yaitu uji toksikologi untuk menentukan efek zat atas berbagai macam pola tingkah laku hewan (28)

#### **II.4.4 Toksisitas Akut**

Toksisitas akut didefinisikan sebagai efek berbahaya yang terjadi dalam waktu singkat setelah pemberian oral dosis tunggal suatu senyawa dalam waktu 24 jam hingga beberapa hari, tergantung dari gejala yang ditimbulkannya. Gejala toksisitas akut dapat menyerupai tiap macam sindroma penyakit, sehingga harus diwaspadai dan selalu mengingat kemungkinan keracunan pada saat sakit mendadak dan menunjukkan gejala-gejala seperti diare, muntah, konvulsi, koma, dan sebagainya. Salah satu cara untuk mengetahui toksisitas akut yaitu dengan menentukan LD<sub>50</sub> dari senyawa-senyawa kimia, namun evaluasinya tidak

- b. Uji teratogenik adalah uji toksisitas untuk menentukan efek terhadap janin atau fetus pada hewan bunting.
- c. Uji reproduksi yaitu uji toksisitas untuk menentukan efek atas kemampuan reproduktif hewan eksperimental.
- d. Uji mutagenik yaitu uji toksisitas untuk menentukan efek pada sistem kode genetika.
- e. Uji kemampuan tumorigenisitas adalah uji toksisitas untuk menentukan kemampuan zat untuk menimbulkan tumor.
- f. Uji kulit dan mata yaitu uji toksisitas untuk menentukan efek lokal zat bilamana zat-zat dipakai secara langsung pada kulit dan mata.
- g. Uji perilaku yaitu uji toksikologi untuk menentukan efek zat atas berbagai macam pola tingkah laku hewan (28)

#### **II.4.4 Toksisitas Akut**

Toksisitas akut didefinisikan sebagai efek berbahaya yang terjadi dalam waktu singkat setelah pemberian oral dosis tunggal suatu senyawa dalam waktu 24 jam hingga beberapa hari, tergantung dari gejala yang ditimbulkannya. Gejala toksisitas akut dapat menyerupai tiap macam sindroma penyakit, sehingga harus diwaspadai dan selalu mengingat kemungkinan keracunan pada saat sakit mendadak dan menunjukkan gejala-gejala seperti diare, muntah, konvulsi, koma, dan sebagainya. Salah satu cara untuk mengetahui toksisitas akut yaitu dengan menentukan  $LD_{50}$  dari senyawa-senyawa kimia, namun evaluasinya tidak

- b. Uji teratogenik adalah uji toksisitas untuk menentukan efek terhadap janin atau fetus pada hewan bunting.
- c. Uji reproduksi yaitu uji toksisitas untuk menentukan efek atas kemampuan reproduktif hewan eksperimental.
- d. Uji mutagenik yaitu uji toksisitas untuk menentukan efek pada sistem kode genetika.
- e. Uji kemampuan tumorigenisitas adalah uji toksisitas untuk menentukan kemampuan zat untuk menimbulkan tumor.
- f. Uji kulit dan mata yaitu uji toksisitas untuk menentukan efek lokal zat bilamana zat-zat dipakai secara langsung pada kulit dan mata.
- g. Uji perilaku yaitu uji toksikologi untuk menentukan efek zat atas berbagai macam pola tingkah laku hewan (28)

#### **II.4.4 Toksisitas Akut**

Toksisitas akut didefinisikan sebagai efek berbahaya yang terjadi dalam waktu singkat setelah pemberian oral dosis tunggal suatu senyawa dalam waktu 24 jam hingga beberapa hari, tergantung dari gejala yang ditimbulkannya. Gejala toksisitas akut dapat menyerupai tiap macam sindroma penyakit, sehingga harus diwaspadai dan selalu mengingat kemungkinan keracunan pada saat sakit mendadak dan menunjukkan gejala-gejala seperti diare, muntah, konvulsi, koma, dan sebagainya. Salah satu cara untuk mengetahui toksisitas akut yaitu dengan menentukan LD<sub>50</sub> dari senyawa-senyawa kimia, namun evaluasinya tidak

- b. Uji teratogenik adalah uji toksisitas untuk menentukan efek terhadap janin atau fetus pada hewan bunting.
- c. Uji reproduksi yaitu uji toksisitas untuk menentukan efek atas kemampuan reproduktif hewan eksperimental.
- d. Uji mutagenik yaitu uji toksisitas untuk menentukan efek pada sistem kode genetika.
- e. Uji kemampuan tumorigenisitas adalah uji toksisitas untuk menentukan kemampuan zat untuk menimbulkan tumor.
- f. Uji kulit dan mata yaitu uji toksisitas untuk menentukan efek lokal zat bilamana zat-zat dipakai secara langsung pada kulit dan mata.
- g. Uji perilaku yaitu uji toksikologi untuk menentukan efek zat atas berbagai macam pola tingkah laku hewan (28)

#### **II.4.4 Toksisitas Akut**

Toksisitas akut didefinisikan sebagai efek berbahaya yang terjadi dalam waktu singkat setelah pemberian oral dosis tunggal suatu senyawa dalam waktu 24 jam hingga beberapa hari, tergantung dari gejala yang ditimbulkannya. Gejala toksisitas akut dapat menyerupai tiap macam sindroma penyakit, sehingga harus diwaspadai dan selalu mengingat kemungkinan keracunan pada saat sakit mendadak dan menunjukkan gejala-gejala seperti diare, muntah, konvulsi, koma, dan sebagainya. Salah satu cara untuk mengetahui toksisitas akut yaitu dengan menentukan  $LD_{50}$  dari senyawa-senyawa kimia, namun evaluasinya tidak

hanya  $LD_{50}$  tetapi juga mengenai kelainan tingkah laku, stimulasi, depresi sistem saraf pusat, aktivitas motorik, dan pernapasan untuk mendapatkan gambaran tentang penyebab kematian (29).

Adapun klasifikasi tingkat keracunan menurut Doull's (30)

- |                         |                 |
|-------------------------|-----------------|
| 1. Praktis tidak toksik | > 15 g/kg BB    |
| 2. Sedikit toksik       | 5-15 g/kg BB    |
| 3. Toksisitas Sedang    | 0,5-5 g/kg BB   |
| 4. Sangat toksik        | 50-500 mg/kg BB |
| 5. Ekstrim toksik       | 5-50 mg/kg BB   |
| 6. Super toksik         | < 5 mg/kg BB    |

#### II.4.4 Dosis Letal Menengah ( $LD_{50}$ )

Pengertian yang paling sederhana dari  $LD_{50}$  adalah dosis dari suatu senyawa kimia yang dapat menyebabkan 50% kematian hewan uji. Pengertian yang lebih tepat adalah dosis tunggal yang diperoleh secara statistik dari suatu bahan yang dapat menyebabkan kematian 50% hewan uji (29).

Untuk menentukan nilai  $LD_{50}$  secara tepat, perlu dipilih suatu dosis yang akan membunuh sekitar separuh jumlah hewan-hewan itu, dosis yang lain akan membunuh lebih dari separuh (kalau bisa kurang dari 90%) dan dosis yang akan membunuh kurang dari separuh (kalau bisa lebih dari 10 %) dari hewan itu (29).

Nilai  $LD_{50}$  yang diperoleh dapat digunakan untuk menentukan indeks terapi dari suatu senyawa, yaitu dengan membagi  $LD_{50}$  dengan

ED<sub>50</sub>. Makin tinggi indeks terapinya, makin besar batas keamanan suatu obat. Disamping itu harga LD<sub>50</sub> dapat digunakan sebagai patokan atau pedoman dalam menentukan suatu obat pada pengembangan suatu obat baru (29,15).

#### II.4.6 Cara Penentuan LD<sub>50</sub>

Ada beberapa cara untuk menentukan LD<sub>50</sub>, beberapa diantaranya adalah sebagai berikut :

##### a. Metode Reed dan Muench (31)

Penentuan LD<sub>50</sub> dengan menggunakan nilai kumulatif. Diasumsikan bahwa hewan yang mati pada dosis tertentu akan mati pada dosis yang lebih besar, dan hewan yang hidup akan tetap hidup pada dosis yang lebih kecil. Jumlah akumulatif hewan yang mati dicatat dengan menambah berturut-turut isi kolom hewan yang mati. Persentase yang telah mati untuk dua dosis yang berurutan dihitung dan kemudian perbandingan jarak dari 50% dihitung dan dikalikan dengan logaritma perbandingan peningkatan dosis berdekatan yang lebih kecil untuk mendapatkan logaritma LD<sub>50</sub>.

##### b. Metode Grafik Millrer dan Tainter (31)

Untuk metode perhitungan ini diperlukan kertas grafik khusus yang disebut kertas grafik logaritma-probit yang memiliki skala probit pada sumbu Y di sebelah kiri. Kadang pula lebih dipilih sumbu Y di sebelah kanan yang menunjukkan skala persen yang berhubungan dengan skala

probit (skala ini nonlinier). Jika skala persen tidak ada, maka probit yang berhubungan dengan persen harus dicari pada tabel probit.

c. Perhitungan secara Aritmatika (22)

Perhitungan ini menggunakan rumus :

$$m = a - b ( \sum p_i - 0,5 )$$

dimana :

- m : logaritma LD<sub>50</sub>
- a : logaritma dosis terendah yang masih menyebabkan jumlah kematian 100 % tiap kelompok.
- b : beda logaritma dosis yang berurutan
- p<sub>i</sub> : jumlah hewan yang mati menerima dosis i dibagi dengan jumlah dosis seluruhnya yang menerima dosis i.

#### II.4 Sistem Saraf

Sistem saraf yang mengkoordinasi sistem-sistem lainnya dalam tubuh dibagi dalam dua golongan yaitu :

- Susunan saraf pusat (SSP), yang terdiri dari otak dan sumsum belakang.
- Susunan saraf perifer yang mencakup susunan saraf otonom dan saraf otak dan tulang belakang, susunan saraf otonom dibagi lagi dalam dua cabang. Yaitu susunan saraf simpatis dan susunan saraf parasimpatis (32).

Susunan saraf otonom adalah bagian sistem saraf yang mengurus perasaan visceral dan semua gerakan involuntar reflektorik, seperti vasodilatasi, vasokonstriksi, peristaltik, berkeringat, merinding dan sebagainya. Susunan saraf otonom mempunyai lintasan descendent dan ascendent baik secara anatomik maupun secara fisiologik. Susunan saraf otonom dibagi lagi dalam dua cabang yaitu susunan saraf simpatis dan susunan saraf parasimpatis. Hal ini didasarkan pada adanya 2 macam zat penghantar impuls (neurotransmitter) yang diproduksi tersebut adalah asetilkolin dan adrenalin (31).

Saraf parasimpatis mekanisme kerjanya menggunakan suatu zat kimia yang disebut asetilkolin untuk menghantarkan impuls ke organ atau saraf berikutnya, sehingga saraf ini disebut saraf kolinergik. Saraf simpatis menggunakan zat kimia adrenalin sehingga disebut saraf adrenergic (31).

Efek perangsangan susunan saraf pusat (SSP) baik oleh obat yang berasal dari alam atau sintetik dapat diperlihatkan pada hewan dan manusia. Beberapa obat memperlihatkan efek perangsangan yang nyata dalam toksik, sedangkan obat lain memperlihatkan efek perangsangan SSP sebagai efek samping. Secara garis besar obat-obat yang bekerja terhadap SSP dibagi dalam 2 golongan berdasarkan efek farmakodinamik yang merangsang atau menghambat aktivitas otak, sum-sum tulang belakang atau saraf-sarafnya. Kedua golongan tersebut adalah: (33)

1. Stimulasi yang merangsang SSP secara langsung maupun tidak langsung tergantung jenis obat dan dosisnya. Efeknya hanya mempengaruhi 1 bagian spesifik dari seluruh bagian SSP, sedangkan

perangsangan SSP dapat memperlihatkan reaksi yang berkisar antara meningkatkan kewaspadaan sampai terjadinya kejang-kejang.

2. Depresi yang menghambat atau memblokir proses tertentu dalam SSP, reaksi berkisar antara efek yang lemah sampai hilangnya kesadaran.

Pemacuan saraf parasimpatis menyebabkan: (31)

1. Pupil mata menyempit (miosis). Miosis tidak terlalu nampak pada mencit, hal ini akan nampak pada kelinci
2. Peristaltik saluran cerna meningkat.
3. Sekresi asam lambung meningkat.
4. Bronkus kontriksi
5. Kontraksi jantung diperlambat (bradikardi)
6. Pembuluh darah tepi melebar (vasodilatasi)
7. Sekresi kelenjar ludah, keringat, air mata bertambah

Efek farmakodinamik pada mencit dan tikus putih dengan pemberian obat kolinergik akan nampak gejala sebagai berikut:

1. Pupil mata menyempit (miosis) tidak terlalu nampak, hal ini akan nampak pada kelinci.
2. Peningkatan peristaltik nampak pada feses yang cair (diare).
3. Sekresi asam lambung tidak nampak, harus menggunakan alat yang disebut kapsul Heidelberg.
4. Tremor dan kejang dapat diamati.
5. Kontriksi bronkus dapat dilihat dari irama pernafasan.

6. Kontraksi jantung diperlambat dan pelebaran pembuluh darah tepi menyebabkan tekanan darah turun, hal ini nampak dengan warna ujung telinga (cuping) lebih merah.
7. Bertambahnya air ludah dapat dideteksi dengan menotolkan mulut mencit pada kertas saring, sedangkan keringat nampak dari bulu mencit basah dan kulit badan nampak (seperti telanjang).
8. Diuresis mudah dilihat bekasnya pada papan "platform"

Pemacuan saraf simpatis menyebabkan :

1. Pelebaran pupil mata (midriasis)
2. Peristaltik saluran cerna menurun
3. Kontraksi jantung dipercepat (takikardi)
4. Pembuluh darah tepi dipersempit (vasokonstriksi)

Efek farmakodinamik pada mencit dan tikus putih dengan pemberian obat adrenergik akan nampak gejala sebagai berikut :

1. Warna ujung telinga mencit pucat karena vasokonstriksi
2. Faeses kurang (sukar diamati)
3. Eksoftalmus (bola mata mencit menonjol)
4. Piloereksi (bulu mencit berdiri)
5. Grooming (mengusap-usap muka)

## **II.5 Pemilihan Dan Persyaratan Hewan Uji**

Tujuan akhir dari pengujian toksisitas suatu senyawa kimia adalah untuk keselamatan manusia, maka hewan uji yang dipakai dipilih yang mempunyai sifat-sifat respon biologik dan adaptasi yang mendekati

manusia. Jenis yang sering digunakan adalah mencit dan tikus, tetapi kadang-kadang kelinci dan anjing juga digunakan. Alasan memilih mencit adalah karena murah dan mudah didapat, berkembang biak dengan cepat, jenis hewan ini ukurannya kecil sehingga mudah pemeliharaannya dan tidak memerlukan biaya yang besar (32).

Respon yang disebabkan oleh suatu senyawa sering bervariasi karena jenis yang berbeda dari hewan yang sama. Oleh karena itu hewan uji yang akan digunakan dipilih berdasarkan umur, jenis kelamin, berat badan, kondisi kesehatan, dan keturunan. Mencit yang digunakan sebaiknya berumur 2-3 bulan (34).

Hewan uji yang digunakan harus selalu berada dalam kondisi dan tingkat kesehatan yang baik, dalam hal ini hewan uji yang digunakan dikatakan sehat bila pada periode pengamatan bobot badannya bertambah, tetap atau berkurang tidak lebih dari 10% serta tidak ada kelainan tingkah laku dan harus diamati satu minggu dalam laboratorium atau pusat pemeliharaan hewan sebelum ujinya berlangsung. Hewan dengan jenis kelamin berbeda, tetapi jumlahnya seimbang, terdiri dari 10 ekor hewan, dan masing-masing kelompok diberi dosis yang berbeda dari formulasi (29)

## **BAB III**

### **PELAKSANAAN PENELITIAN**

#### **III.1 Alat dan Bahan yang Digunakan**

Alat-alat yang digunakan adalah panci infus stainless steel, kanula, labu tentukur 10 ml, kandang hewan, meja alas bulat, evaporator, spoit, timbangan analitik, timbangan hewan (*Berkef*)

Bahan-bahan yang digunakan adalah angkak, air suling, etanol 50%, Natrium-CMC.

#### **III.2 Prosedur Kerja**

##### **III.2.1 Penyiapan dan Pengolahan Sampel**

Sampel yang digunakan adalah angkak yang dibeli di salah satu toko di Makassar.

sebanyak 50 g angkak dibasahi dengan 10 mL etanol 50% dengan penambahan etanol 50% sebanyak 1 L, dipanaskan dalam panci infus hingga mencapai suhu 90°C dan dipertahankan suhunya selama 15 menit, kemudian disaring menggunakan kertas saring whatman no.1. Hasil yang diperoleh diuapkan dengan rotavapor hingga diperoleh ekstrak kental, kemudian dikeringkan dengan cara diangin-anginkan hingga diperoleh ekstrak kering dan ditimbang masing-masing sesuai kebutuhan.

##### **III.2.2 Pembuatan Larutan Koloidal Na-CMC 1% b/v**

Natrium CMC sebanyak 1 g dimasukkan sedikit demi sedikit ke dalam 50 ml air suling panas (70°C) sambil diaduk dengan pengaduk

elektrik hingga terbentuk larutan koloidal, lalu dicukupkan volumenya hingga 100 ml dengan air suling.

### **III.2.3 Pembuatan Suspensi Ekstrak Etanol angkak**

Ekstrak kental yang diperoleh dibuat suspensi Na-CMC 1% b/v. Konsentrasi yang dibuat adalah 200, 400, 600, dan 800 mg/30 g BB. Cara pembuatannya sebagai berikut: suspensi ekstrak 200 mg/30 g BB dengan cara ditimbang sebanyak 2 g ekstrak etanol lalu disuspensikan dengan larutan Na-CMC 1% b/v, sedikit demi sedikit kedalamnya hingga homogen. Sediaan yang homogen dimasukkan kedalam labu tentukur 5 mL dan diadkan hingga 10 mL. Untuk membuat suspensi dengan masing-masing konsentrasi 400, 600, dan 800 mg/30 g BB dibuat dengan cara yang sama dengan menimbang ekstrak etanol bunga angkak masing-masing 4 g, 6 g dan, 8 g.

### **III.3 Pemilihan dan Penyiapan Hewan Uji (7)**

Hewan uji yang digunakan adalah mencit yang sehat, gerakannya lincah, bulunya bersih, dewasa, bukan turunan albino, penurunan berat badan tidak lebih dari 5-10 % dari berat badan semula, berumur 2-3 bulan dengan berat badan antara 20-30 g.

Disiapkan 50 ekor mencit terdiri dari 25 ekor mencit jantan dan 25 ekor mencit betina. Mencit tersebut dibagi dalam 5 kelompok, yaitu 4 kelompok yang diberi perlakuan dan 1 kelompok kontrol. Tiap kelompok terdiri dari 5 ekor mencit betina dan 5 ekor mencit jantan

### III.4 Perlakuan Pada Hewan Uji

Hewan uji yang telah ditimbang bobot badannya dan dipuasakan selama 4 jam, diberi suspensi ekstrak etanol secara oral sebanyak 1 ml/30 gram berat badan dengan konsentrasi 200, 400, 600, dan 800 mg/30 g BB. Cara Pengujian :

1. Uji Panggung, mencit ditempatkan di atas meja bulat dengan diameter 30-40 cm dan tinggi sekitar 40-45 cm. Dilakukan pengamatan terhadap aktivitas mencit secara umum. Gejala abnormal mencit ditunjukkan dengan perilaku berjalan berputar-putar, menggosok hidung, dan menggeliat.
2. Uji Katalepsi, kaki depan mencit diletakkan pada pensil yang digerakkan dari atas ke bawah 2-3 cm di atas permukaan meja. Dilakukan pengamatan terhadap mudah tidaknya kaki depan mencit jatuh kembali ke atas meja.
3. Uji Urinasi, dilakukan pengamatan terhadap intensitas urinasi mencit dengan menggunakan kertas saring.
4. Uji Defekasi, dilakukan pengamatan terhadap konsistensi defekasi mencit dengan menggunakan kertas saring.
5. Uji Salivasi, dilakukan pengamatan terhadap intensitas salivasi mencit dengan menggunakan kertas saring.

### III.5 Pengamatan (35)

Pengamatan efek toksik dilakukan terhadap mencit yang memperlihatkan gejala-gejala berupa : peningkatan laju pernapasan,

urinasi berlebihan, salivasi, diare, dan kelumpuhan yang tidak normal setelah pemberian suspensi ekstrak etanol angkak pada menit ke-5, 10, 15, 30, 60, 120, 180, dan 240. Dilanjutkan dengan pengamatan perkembangan bobot badan dan pengamatan LD<sub>50</sub> dilakukan terhadap mencit yang mati dan yang masih hidup setiap kelompok selama periode 0-14 hari. Semua parameter ini dibandingkan dengan kontrol negatif, dan dari data kematian yang ada di hitung LD<sub>50</sub> nya.

### **III.6 Pengumpulan Data**

Data efek toksik diambil dari mencit yang memperlihatkan gejala-gejala abnormal setelah pemberian suspensi ekstrak etanol angkak dibandingkan dengan kontrol.

Data LD<sub>50</sub> diambil dari jumlah mencit yang mati dan yang masih hidup pada setiap kelompok, kemudian ditabulasi.

### **III.7 Analisis Data**

Data efek toksik diambil dari mencit yang memperlihatkan gejala-gejala yang tidak normal setelah pemberian suspensi ekstrak etanol angkak dibandingkan dengan kontrol lalu dikali dengan faktor pembobotan masing-masing efek yang timbul dan dihitung persentase tiap kelompok. Sedangkan data LD<sub>50</sub> diambil dari mencit yang mati dan masih hidup setiap kelompok kemudian untuk perhitungan LD<sub>50</sub> dianalisis dengan menggunakan metode Reed and Muench.

## BAB IV

### HASIL DAN PEMBAHASAN

#### IV.1 Hasil Penelitian

Dari hasil ekstraksi 100 gram angkak diperoleh ekstrak kental sebanyak 30,6 gram. Ekstrak etanol kental kemudian dibuat suspensi dengan larutan koloidal Na-CMC dengan konsentrasi berturut-turut 200 mg/ 30 g BB (6,67 g/kg BB), 400 mg/ 30 g BB (13 g/kg BB), 600 mg / 30 g BB (20 g/kg BB), dan 800 mg / 30 g BB (26,67 g/kg BB) dan diberikan secara oral pada mencit dan memberikan hasil sebagai berikut :

1. Pada konsentrasi 200 mg/ 30 g BB sudah mulai tampak gejala-gejala toksik seperti peningkatan laju pernapasan, penurunan aktifitas gerak, urinasi, dan diare. Pada konsentrasi 400 mg/ 30 g BB terjadi gejala toksik yang sama tetapi frekuensinya lebih banyak. Begitu pula yang terjadi pada konsentrasi 600 mg/ 30 g BB dan 800 mg/ 30 g BB, efek toksik yang terjadi mengalami peningkatan frekuensi dengan gejala toksik yang sama pada konsentrasi sebelumnya. Gejala toksik yang timbul berupa penurunan aktifitas gerak dihubungkan dengan depresi susunan saraf pusat dan relaksasi otot. Peningkatan laju pernafasan dihubungkan dengan efek kolinergik (SSO) dan stimulasi SSP. Gejala diare dan urinasi dihubungkan dengan efek kolinergik (SSO). Sedangkan pada kelompok kontrol yang diberikan Na-CMC tidak menunjukkan gejala tersebut. Hasil selengkapnya dapat dilihat pada tabel 1.



2. Gambaran perkembangan bobot badan mencit selama 14 hari setelah pemberian ekstrak etanol angkak dapat dilihat pada tabel 2.

Tabel 2. Perkembangan Bobot badan rata-rata mencit jantan dan betina yang diamati selama 14 hari setelah pemberian suspensi ekstrak etanol angkak

Perlakuan	KONTROL NEGATIF (Na.CMC 1%)		Ekstrak etanol 200 mg/ 30 g BB		Ekstrak etanol 400 mg/ 30 g BB		Ekstrak etanol 600 mg/ 30 g BB		Ekstrak etanol 800 mg/ 30 g BB	
	J(g)	B(g)	J(g)	B(g)	J(g)	B(g)	J(g)	B(g)	J(g)	B(g)
0	26,4	28	29,6	26,4	26,4	26,4	26,4	26,4	26,8	25,2
1	26,6	28,2	29,2	25,8	26,2	26,4	26,2	26,2	26,5	24,8
2	26,6	28,4	29,2	25,8	26,2	26	26,2	26,2	25,5	25,25
3	26,6	28,6	29,2	26	26	26,4	27,25	25,2	25,3	22
4	26,6	28,6	29,4	26,2	25,75	26,6	28	25,2	27,5	23
5	26,6	28,6	29,4	26,6	26,5	26,6	28	25,75	28	23
6	26,6	28,8	29,8	26,6	27,25	29	28	26,3	27	23
7	27	29,2	29,8	27,4	27,5	29,5	28	26,3	30	26
8	27	29,2	29,6	27	28,5	29,25	28	26	28	0
9	27	29,2	29,8	27,6	28,3	29	28	26,67	28	0
10	27,2	29,6	30,2	28	28,67	29	29	27	28	0
11	27,2	30	30	28	27,67	29,25	29,5	26,5	0	0
12	27,2	30	30	28,6	27	29,75	29,5	26	0	0
13	27,6	29,8	30,4	28,6	27,3	30	29	26	0	0
14	27,6	29,8	30,4	29	27,3	29,25	29	26,5	0	0

Keterangan :

J = Mencit Jantan  
B = Mencit Betina

3. Jumlah Kematian Hewan Uji mencit Berdasarkan Perbedaan Jenis Kelamin Setelah Pemberian Ekstrak Etanol angkak selama 14 hari berturut-turut dapat dilihat pada tabel 3.

Tabel 3. Jumlah Kematian Hewan Uji Berdasarkan Perbedaan Jenis Kelamin Setelah Pemberian Ekstrak Etanol angkak selama 14 hari berturut-turut

Konsentrasi	Jumlah Mencit		Jumlah Mencit Hidup		Jumlah Mencit Mati	
	Jantan	Betina	Jantan	Betina	Jantan	Betina
Kontrol	5	5	5	5	0	0
200 mg/ 30 g BB	5	5	5	5	0	0
400 mg/ 30 g BB	5	5	3	4	2	1
600 mg/ 30 g BB	5	5	2	2	3	3
800 mg/ 30 g BB	5	5	0	0	5	5

4. Nilai LD<sub>50</sub> ekstrak etanol angkak menggunakan metode Reed and Muench adalah 16,865g/ kg bobot badan mencit setara dengan 50,6% suspensi ekstrak etanol angkak. Cara perhitungan dapat dilihat pada lampiran IV.

#### IV.2 Pembahasan

Uji toksisitas akut adalah suatu pengujian untuk menetapkan potensi toksisitas akut LD<sub>50</sub>, menilai berbagai gejala toksik dan mekanisme kematian (29).

Tujuan Uji toksisitas akut adalah untuk mendeteksi adanya toksisitas suatu zat, menentukan organ sasaran dan kepekaanya, memperoleh data bahayanya setelah pemberian suatu senyawa secara akut dan untuk memperoleh informasi awal yang dapat digunakan untuk

menetapkan tingkat dosis yang diperlukan untuk uji toksisitas selanjutnya. Disamping itu data kematian yang diperoleh ditentukan nilai LD<sub>50</sub> pada mencit jantan dan betina.

Hasil pengamatan terhadap kematian mencit selama 14 hari setelah pemberian suspensi ekstrak etanol angkak menunjukkan adanya kematian terhadap mencit pada konsentrasi 400 mg/ 30 g BB sebanyak 3 ekor, 600 mg/ 30 g BB sebanyak 6 ekor, dan pada 800 mg/ 30 g BB semua mencit mati. Sedangkan pada konsentrasi 200 mg/ 30 g BB dan kontrol tidak ada mencit yang mati (Tabel.3)

Pada konsentrasi 200 mg/ 30 g BB tidak ada mencit yang mati, namun mencit menunjukkan gejala berupa peningkatan laju pernafasan, penurunan aktifitas gerak, urinasi serta diare. Pada konsentrasi 400 mg/ 30 g BB, 600 mg/ 30 g BB, dan 800 mg/30 g BB gejala yang timbul serupa dengan gejala yang timbul pada konsentrasi 200 mg/ 30 g BB, namun frekuensinya lebih besar (Tabel 1).

Hasil pengamatan tersebut menunjukkan bahwa, semakin tinggi konsentrasi ekstrak, maka efek yang ditimbulkan akan semakin besar dilihat dari frekuensi gejala toksik yang timbul mulai dari peningkatan laju pernafasan, penurunan aktifitas gerak, gejala diare, urinasi, kejang, kelumpuhan dan banyaknya hewan yang mati pada tiap-tiap konsentrasi. Hal tersebut dapat dipengaruhi oleh semakin tinggi konsentrasi ekstrak, maka semakin banyak kandungan zat aktif yang terdapat dalam suspensi

ekstrak tersebut, sebagaimana diketahui bahwa, dosis merupakan hal utama yang menentukan apakah suatu zat kimia bersifat racun.

Pada konsentrasi 200 mg/ 30 g BB walaupun terjadi gejala toksik setelah pemberian suspensi ekstrak, namun tidak ada mencit yang mati hingga hari ke 14, dan gejala yang timbul berangsur-angsur berkurang, karena adanya metabolisme dalam tubuh mencit, sehingga efeknya akan menurun setelah beberapa hari. Hal tersebut juga terjadi pada mencit yang masih hidup pada konsentrasi 400 mg/ 30 g BB, 600 mg/ 30 g BB, dan 800 mg/ 30 g BB. Gejala toksik yang timbul berupa penurunan aktifitas gerak dihubungkan dengan depresi susunan saraf pusat dan relaksasi otot. Peningkatan laju pernafasan dihubungkan dengan efek kolinergik (SSO) dan stimulasi SSP. Gejala diare dan urinasi dihubungkan dengan efek kolinergik (SSO). Untuk efek kejang yang dihubungkan dengan efek kolinergik dan stimulasi SSP, salivasi dihubungkan dengan efek kolinergik dan kelumpuhan dengan efek depresi SSP dan relaksasi otot pada konsentrasi 200 mg/ 30 g BB tidak teramati yang ditunjukkan dengan tidak adanya kematian. Dari hasil pengamatan secara menyeluruh dapat pula dilihat bahwa perubahan aktivitas abnormal yang diperlihatkan hewan uji mengalami peningkatan persentase untuk masing-masing kategori.

Adapun cara untuk mendapatkan tiap-tiap persen dari tiap kategori adalah dengan cara mengalikan antara banyaknya efek yang diamati dengan faktor pembobotan masing kategori dibagi dengan banyaknya

pengamatan yang dikali dengan faktor pembobotan kemudian dikali dengan 100 %. Dari hasil perhitungan Reed and Muench, didapatkan LD<sub>50</sub> ekstrak etanol angkak sebesar 16,865 g/kg BB mencit dan termasuk dalam kategori praktis tidak toksik (menurut Doull's) (30).

Gambaran perkembangan bobot badan rata-rata mencit selama 14 hari setelah pemberian ekstrak etanol angkak dinyatakan tidak berpengaruh terhadap pertumbuhan atau perkembangan bobot badan baik mencit jantan maupun mencit betina. Terjadinya penurunan bobot badan dalam sehari yang tidak mencapai 5% tanpa menunjukkan pengaruh perilaku hewan uji, adalah umum terjadi akibat perlakuan (Tabel 2).

Jumlah kematian mencit jantan dan betina pada setiap kelompok bervariasi sehingga untuk mengetahui apakah ada pengaruh perbedaan jenis kelamin terhadap kematian mencit setelah pemberian suspensi ekstrak, maka dilakukan analisa statistik dengan menggunakan metode t berpasangan.

Berdasarkan analisis data diperoleh nilai t dengan  $\alpha = 0,05$  pada  $df=3$ , nilai t adalah 3,182. Nilai t pada perhitungan (0,2485) lebih kecil dari nilai t pada tabel (3,182) yang menunjukkan bahwa pengujian bersifat non-signifikan atau tidak berbeda nyata. Jadi pemberian ekstrak etanol angkak tidak memberikan perbedaan nyata terhadap kematian mencit jantan dan betina.

## **BAB V**

### **KESIMPULAN DAN SARAN**

#### **V.1 Kesimpulan**

Berdasarkan hasil penelitian dan hasil analisis uji toksisitas akut ekstrak etanol angkak maka dapat ditarik kesimpulan sebagai berikut :

1. Nilai LD<sub>50</sub> ekstrak etanol angkak adalah sebesar 16,865 g/kg bobot badan mencit setara dengan 50,6% suspensi ekstrak etanol angkak dan dikategorikan praktis tidak toksik.
2. Pemberian ekstrak etanol angkak memperlihatkan gejala-gejala toksik seperti peningkatan laju pemapasan, penurunan aktivitas gerak, urinasi, dan diare. Gejala ini mulai nampak pada konsentrasi 200 mg/ 30 g BB dan 400 mg/ 30 g BB namun dianggap tidak bermakna. Pada konsentrasi 600 mg/ 30 g BB dan 800 mg/ 30 g BB frekuensinya semakin meningkat dan gejala ini dianggap bermakna.
3. Perbedaan jenis kelamin tidak menjadi pengaruh terhadap efek toksik yang timbul pada mencit setelah pemberian secara oral suspensi ekstrak etanol angkak.

#### **V.2 Saran**

Sebaiknya dilakukan uji toksisitas subkronik untuk mengetahui efek subkronik angkak apabila diberikan pada hewan coba secara berulang-ulang.

## DAFTAR PUSTAKA

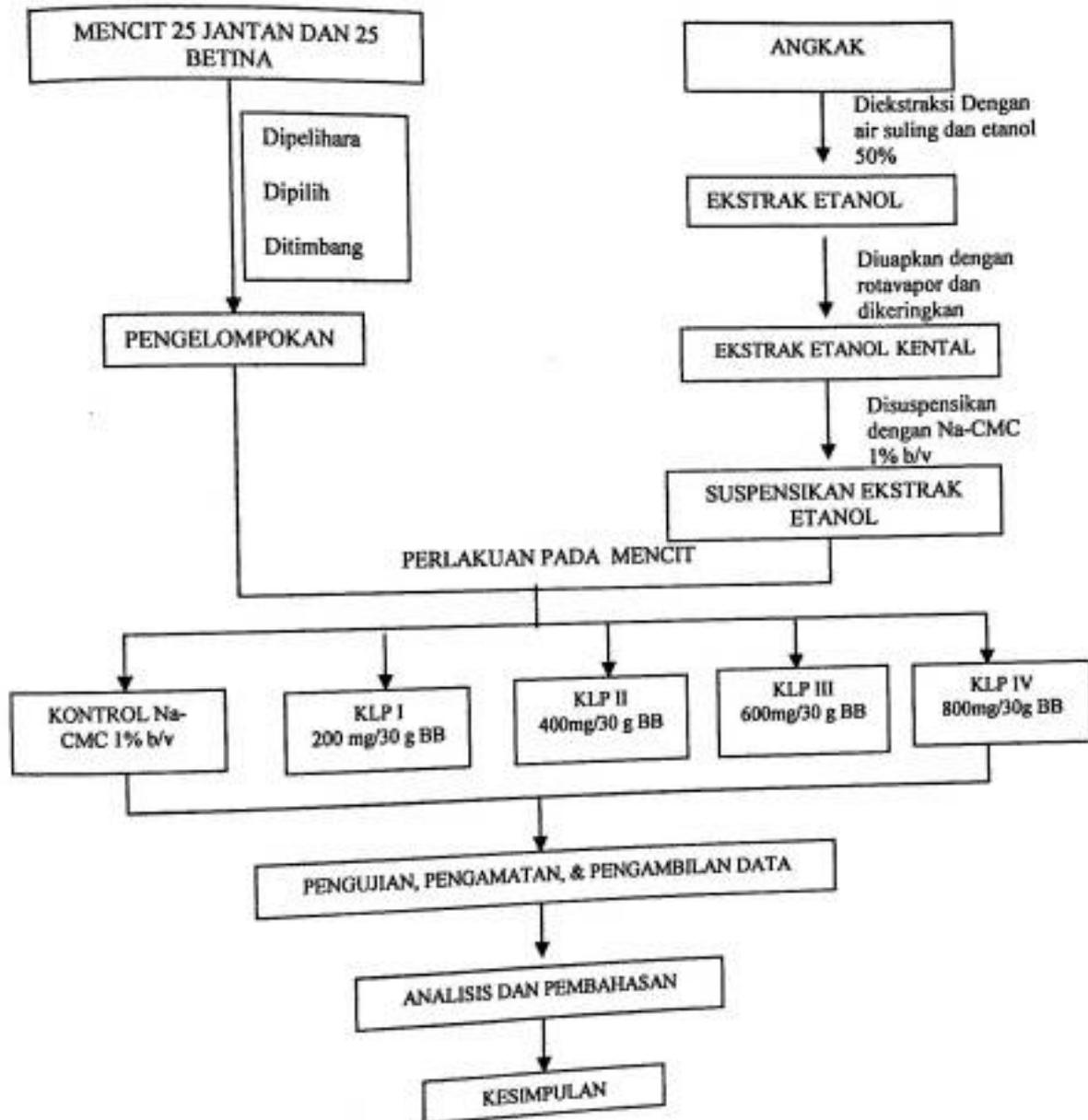
1. Endogrul, O and Azirak, S. *Review of The Studies on The Red Yeast Rice (Monascus Purpureus) (PDF)*. Turkish Electronic Journal of Biotechnology. 2004. Vol.2, pp.37-42.
2. Omamor, IB., Eziashil, E.I., and Adekunle, A.A. *Carbon nutrition in relation to growth of three Monascus spesies isolated from decaying date fruits African journal of Microbiology Research*. 2008. Vol.2, pp 153-155.
3. Carvalho, JC., Oishi, B.O., Pandey, A. Soccol, C.R. 2005. *Biopigments from Monascus: Strains Selection, Citrinin Production and Colour Stability*. 2005.
4. Yuliarna, R. *Uji Efek Ekstrak n-Heksan Angkak Terhadap Kenaikan Trombosit Kelinci ( Oryctolagus coniculus ) yang Mengalami Trombositopenia*. Fakultas Farmasi, Jurusan Farmasi, Universitas Hsanuddin, makassar. 2007.hal. 2
5. Syam, Y. *Efek Angkak Terhadap peningkatan Trombosit pada Pasien Demam Berdarah Dengue di Ruang Lontara IV RSUP. Wahidin SudiroHusodo*. Thesis. Pasca sarjana UNHAS. 2006.
6. Ma J, Li Y, Ye Q, Li J Hua, Y. *Constituent of Red Yeast Rice, a Tradisional Chinese Food and Medicine*. J. Agric. Food. Chem. 2000. Hal. 48.
7. Malole MBM. Pramono CSU. *Penggunaan Hewan-hewan Laboratorium*. Direktorat Jendral Pendidikan Tinggi Pusat Antar Universitas. Bioteknologikal IPB. Bogor. 1989. hal. 94
8. Nurhidayat, N. *Angkak Meningkatkan Jumlah Trombosit*. 2006. [dikutip 18 desember 2009] Available from: <http://www.pikiran-rakyat.com>
9. Ardiansyah. *Minum angkak menurunkan Lemak dan Tekanan Darah*. 2008. [dikutip 18 desember 2009] Available from: <http://www.halalguide.com>
10. Wood, JBB. *Microbiology of Fermented Food*. Vol. 2. Elseiver Applied Science Publishers.1985. hal. 252-253
11. Tisnadjaja, D. *Bebas Kolesterol dan Demam Berdarah dengan Angkak*. Penebar Swadaya Jakarta. 2006. Hal. 57-60.

12. Sardjoko. *Bioteknologi Latar Belakang dan Beberapa Penggunaanya*. PT. Gramedia Pustaka Utama. Jakarta. 1991. Hal. 132.
13. Permana, Djumhawan, R., Sunnati Marzuki, D. Tisnadjaja. *Analisis Kualitas Produk Fermentasi Beras (Red Fermented Rice) dengan *Monascus purpureus* 3090*. 2004. [Dikutip 20 Desember 2009]. Available from: <http://www.unsjournals.com/D/D0501/D0501pdf/D050102.pdf>.
14. Sooksand, R dan S. Gongskadi. *Thai Red-Rice Anka, dalam Handbook of Indigenous Fermented Foods*. (K.H.Sceinkrauz,ed). Marcel Inc. New York. 1977. Hal. 147
15. Ganiswara SG. *Farmakologi dan Terapi. Edisi IV*. Bagian Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. Jakarta. 1995. Hal. 726-766.
16. Nasronudin. *Role of *Monascus purpureus* on Thrombocytopenia DHF*. *Simposium Nasional penyakit Tropik Infeksi Dan HIV AIDS*. Surabaya, Maret 2008.
17. Nurhidayat, N. **Monascus purpureus* Kapang Merah Untuk Penanggulangan Infeksi*. *Simposium Nasional penyakit Tropik Infeksi Dan HIV AIDS*. Surabaya, Maret 2008.
18. Biing-Hsui, TTS Wu. M.c. *Evaluation of Citrinin occurrence and cytotoxicity*. *J Agricult. Food. Chemistry* . 2005. 53 ; 1-5.
19. Lin YL, TH Wang , and N.W su. *Biologically active components and nutraceuticals in the *Monascus* fermented rice a riview*. *Appl Microbiol Biotechnol*. 2008. Hal. 965-73
20. Agus. T. *Seputar Angkak*. 2007. [dikutip 18 desember 2009] Available from: <http://www.bearbookstore.com>
21. Walford, J. *Developments in Food Colours-2*. Elseiver Applied Science Publishers. New York. 1984. Hal. 164,165.
22. Direktorat Jenderal Pengawasan Obat Dan Makanan. *Farmakope Indonesia*. Edisi III. Departemen kesehatan Republik Indonesia. Jakarta. 1979. hal 9, 910
23. Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan. *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*. Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Jakarta. 2000. hal 1

24. Harborne JB. *Metode Fitokimia*. Terjemahan kosasih P dan Iwang S. Institut Teknologi Bandung. Bandung. 1987. hal. 6
25. Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan. *Sediaan Galenik*. Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Jakarta. 1986. hal. 10-11
26. Ariens AJ. *Toksikologi Umum Pengantar*. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta. 1985. hal.15
27. Koeman JH. *Pengantar Umum Toksikologi*. Terjemahan Yudono RH. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta. 1987 hal. 34-36
28. Loomis TA. 1978. *Toksikologi Dasar*. Edisi III. Terjemahan Donatus IA. Laboratorium Farmakologi dan Toksikologi. Universitas Gadjah Mada. Yogyakarta. 1978. hal. 225-26, 233-38
29. Hayes AW. *Principels and Methods of toxicology*. Raven Press. New York. 1983. Hal 4-23
30. Klaassen CD, editor . *Cassaret's and Doull's Toxicology the Basic Science of Poisons*. 3<sup>rd</sup> ed. Mack Publishing Co.Inc. NewYork. 1986. hal. 12-13
31. Turner RA. *Screening Methods in Pharmacology*. Academic Press. London. 1965. hal. 3-21, 61-2
32. Hodgson E. *Textbook of Modern Toxicology*. 3rd ed. A. John Wiley & Sons, Inc. Publication. Canada. 2004. hal. 364-70
33. Mardjono.MS. *Neurologi Klinik Dasar. Edisi 4*. Dian rakyat. Jakarta. 1994. Hal 219-35
34. Lu CF. *Toksikologi Dasar*. Edisi II. Terjemahan Edi N. Univesitas Indonesia. Jakarta. 1995. hal. 84-103
35. Angelina, Marissa, Sri hartati, Indah D. Dewijanti, Sofan D.S Banjarnahor, Dan Lia Meilawaati. *Penentuan LD<sub>50</sub> daun Cinco (Cyclea barbata Miers.) pada mencit*. 2008. [Dikutip 20 November 2009]. Vol. 12. Available from: <http://www.journal.ui.ac.id/?hal=detailArtikeI&q=364>

## LAMPIRAN I

### SKEMA KERJA



Skema Kerja Pembuatan Ekstrak Etanol ANGKAK dan Uji Toksisitas Akut Pada Mencit (*Mus musculus*)

## LAMPIRAN II

Hasil perhitungan antara banyaknya efek yang tampak dihubungkan dengan faktor pembobotan masing-masing aktivitas yang diamati.

No	Kategori	Konsentrasi yang Diberikan			
		20%	40%	60%	80%
1	Kolinergik	4,68%	9,37%	12,89 %	20,31%
2	CNS Act.	2,08%	6,25%	10,40%	22,90%
3	CNS Dep.	4,68%	6,25 %	10,93 %	12,50%
4	Musc. Rel	4,68%	6,25%	10,93 %	12,50%

Keterangan :

CNS Act. = Central Nervous System Activated, Simulasi Sistem Saraf  
Pusat

CNS Dep. = Central Nervous System Depressed, Depresi SSP

Musc. Rel = Muscle Relaxation, Relaksasi Otot

Kol. = Kolinergik

Rumus yang digunakan untuk memperoleh diatas :

$$\% = \frac{\sum (\text{Banyaknya efek yang diamati} \times \text{faktor pembobotan})}{\sum (\text{Banyaknya pengamatan} \times \text{faktor pembobotan})} \times 100\%$$

**Cara perhitungan efek kolinergik**

Konsentrasi 20%

$$\% = \frac{(1 \times 2) + (2 \times 1) + (0 \times 2) + (4 \times 2) + (0 \times 1)}{(32 \times 2) + (32 \times 1) + (32 \times 2) + (32 \times 2) + (32 \times 1)} \times 100\% = 4,68\%$$

Konsentrasi 40%

$$\% = \frac{(3 \times 2) + (2 \times 1) + (0 \times 2) + (8 \times 2) + (0 \times 1)}{(32 \times 2) + (32 \times 1) + (32 \times 2) + (32 \times 2) + (32 \times 1)} \times 100\% = 9,37\%$$

Konsentrasi 60%

$$\% = \frac{(5 \times 2) + (3 \times 1) + (0 \times 2) + (10 \times 2) + (0 \times 1)}{(32 \times 2) + (32 \times 1) + (32 \times 2) + (32 \times 2) + (32 \times 1)} \times 100\% = 12,89\%$$

Konsentrasi 80%

$$\% = \frac{(11 \times 2) + (6 \times 1) + (0 \times 2) + (12 \times 2) + (0 \times 1)}{(32 \times 2) + (32 \times 1) + (32 \times 2) + (32 \times 2) + (32 \times 1)} \times 100\% = 20,31\%$$

persentase kategori efek stimulasi SSP, relaksasi otot polos dan depresi SSP dihitung dengan cara yang sama dan hasilnya dapat dilihat pada lampiran II.

### LAMPIRAN III

Hubungan antara faktor pembobotan dan kategori efek

No	Aktivitas	Faktor Pembobotan	Kategori Efek			
1	Penurunan Aktivitas Gerak	1,0	-	-	Depresi CNS	Musc Rel
2	Peningkatan laju pernafasan	2,0	Kolinergik	Act CNS	-	-
3	Urinasi	1,0	Kolinergik		-	-
4	Salivasi	2,0	Kolinergik		-	-
5	Diare	2,0	Kolinergik		-	-
6	Konvulsi	1,0	Kolinergik	Act CNS	-	-
7	Kelumpuhan	1,0	-		Depresi CNS	Musc CNS

Keterangan :

Act. CNS = Simulasi Sistem Saraf Pusat (SSP)

Dep. CNS = Depresi SSP

Musc. CNS = Relaksasi Otot

### LAMPIRAN III

Hubungan antara faktor pembobotan dan kategori efek

No	Aktivitas	Faktor Pembobotan	Kategori Efek			
1	Penurunan Aktivitas Gerak	1,0	-	-	Depresi CNS	Musc Rel
2	Peningkatan laju pernafasan	2,0	Kolinergik	Act CNS	-	-
3	Urinasi	1,0	Kolinergik		-	-
4	Salivasi	2,0	Kolinergik		-	-
5	Diare	2,0	Kolinergik		-	-
6	Konvulsi	1,0	Kolinergik	Act CNS	-	-
7	Kelumpuhan	1,0	-		Depresi CNS	Musc CNS

Keterangan :

Act. CNS = Simulasi Sistem Saraf Pusat (SSP)

Dep. CNS = Depresi SSP

Musc. CNS = Relaksasi Otot

## LAMPIRAN IV

Perhitungan LD<sub>50</sub> Ekstrak Etanol angkak Menurut Cara Reed dan Muench

Konsentrasi (% b/v)	Dosis (g/kg)	Mati	Hidup	Kumulatif			Rasio kematian	% Kematian
				Mati	Hidup	Total		
Kontrol	0	0	10	0	31	31	0/31	0
20	6,67	0	10	0	21	21	0/21	0
40	13,33	3	7	3	11	14	3/14	21,42
60	20	6	4	9	4	13	9/13	69,23
80	26,67	10	0	19	0	19	19/19	100

Perhitungan LD<sub>50</sub>

Persamaan untuk mendapatkan nilai LD<sub>50</sub>, yaitu :

$$h = \frac{50\% - a}{b - a}$$

$$i = \log \frac{k}{s}$$

$$g = h \times i$$

$$y = g + \log s$$

$$LD_{50} = \text{anti log } y$$

dimana :

- h : Ukuran jarak
- a : Persentase kematian yang lebih kecil dari 50%
- b : Persentase kematian yang lebih besar dari 50%
- i : Kenaikan dosis
- k : Dosis kematian yang lebih besar dari 50%
- s : Dosis kematian yang lebih kecil dari 50%

$g$  : Hasil perkalian antara kenaikan dosis dengan ukuran jarak

$y$  : Hasil penambahan antara  $g$  dan  $\log s$

Jadi :

$$h = \frac{50\% - 21,42\%}{69,23\% - 21,42\%} = \frac{28,58}{47,81} = 0,59$$

$$i = \log \frac{20}{13,33} = \log 1,5 = 0,176$$

$$g = h \times i = 0,59 \times 0,176 = 0,103$$

$$y = g + \log s = 0,103 + \log 13,33 = 0,103 + 1,124 \\ = 1,227$$

$$LD_{50} = \text{anti log } y$$

$$= \text{anti log } (1,227)$$

$$= 16,865 \text{ g/kg BB mencit}$$

Jadi  $LD_{50}$  ekstrak etanol angkak adalah 16,865 g/ kg bobot badan mencit.

## LAMPIRAN V

Analisa Statistik pengaruh perbedaan jenis kelamin terhadap kematian hewan uji setelah pemberian Suspensi Ekstrak Etanol angkak.

Konsentrasi	Jumlah Hewan Uji Mati		$(X_1 - X_2)$	$(X_1 - X_2)^2$
	Jantan ( $X_1$ )	Betina ( $X_2$ )		
20%	0	0	0	0
40%	2	1	1	1
60%	3	3	0	0
80%	5	5	0	0
$\Sigma$	$X_1 = 10$	$X_2 = 9$	$\Sigma d = 1$ $d = 0,25$	$\Sigma d^2 = 1$

Rumus yang digunakan

$$Sd^2 = \frac{\Sigma d^2}{(n-1)} - \frac{(\Sigma d)^2}{n(n-1)}$$

$$Sd^2 = \frac{1}{(4-1)} - \frac{(1)^2}{4(4-1)} = 0,33 - 0,083$$

$$= 0,247$$

$$Sd = \sqrt{0,247} = 0,497$$

$$S_{ED} = \frac{Sd}{\sqrt{n}}$$

$$S_{ED} = \frac{0,497}{\sqrt{4}} = 0,2485$$

Dimana :  $Sd$  = Beda Simpangan Baku

$S_{ED}$  = Beda Kesalahan Baku

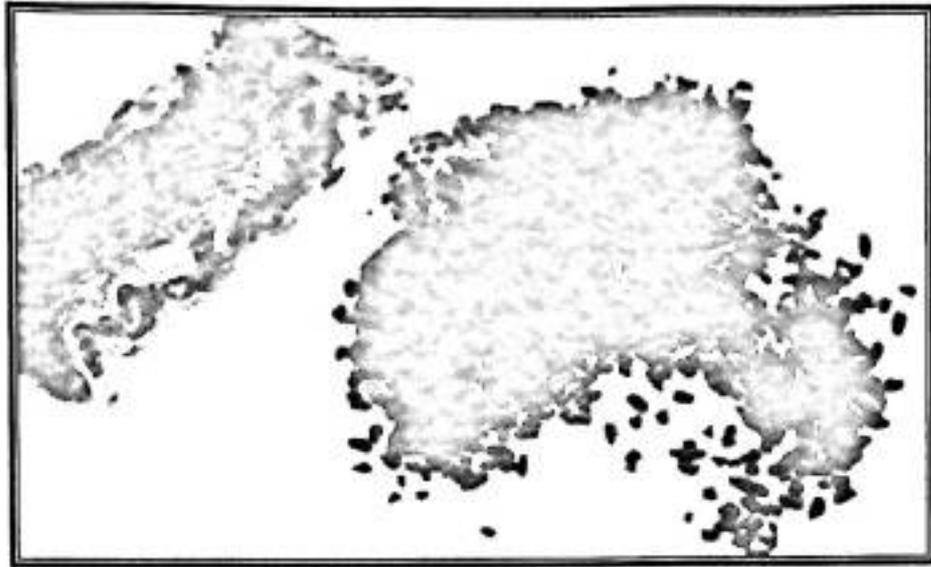
$d$  =  $(X_1 - X_2)$

$d^2$  =  $(X_1 - X_2)^2$

th = Nilai th dari perhitungan

n = Jumlah perlakuan

Pada tabel statistik uji t dengan  $\phi = 0,05$  pada  $dB = 3$ , nilai t adalah 3,182. Jadi nilai t dari perhitungan (0,2485) lebih kecil dari nilai t pada tabel (3,182), yang menunjukkan bahwa pengujian bersifat non-signifikan atau tak berbeda nyata. Jadi pemberian suspensi ekstrak etanol angkak tidak memberikan perbedaan nyata terhadap kematian mencit jantan dan betina.



Gambar 2. Foto beras merah Angkak