UJI TOKSISITAS AKUT EKSTRAK AIR KASUMBA TURATE (*Carthamus tinctorius* L.) PADA MENCIT (*Mus musculus*)

ANDI PUTRI AYUNINTIAS
N111 07 014

PROGRAM STUDI FARMASI
FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2013

UJI TOKSISITAS AKUT EKSTRAK AIR KASUMBA TURATE (*Carthamus tinctorius* L.) PADA MENCIT (*Mus musculus*)

SKRIPSI

Untuk melengkapi tugas-tugas dan memenuhi

syarat-syarat untuk mencapai gelar sarjana

ANDI PUTRI AYUNINTIAS
N111 07 014

PROGRAM STUDI FARMASI
FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2013

UJI TOKSISITAS AKUT
EKSTRAK AIR KASUMBA TURATE (*Carthamus tinctorius* L.)
PADA MENCIT (*Mus musculus*)

ANDI PUTRI AYUNINTIAS
N111 07 014

Disetujui Oleh :

Pembimbing Utama

Prof. Dr. Elly Wahyudin, DEA., Apt.
NIP. 19560114 198601 2 001

Pembimbing Pertama,

Dra. Rahmawati Syukur, M.Si., Apt
NIP. 19651010 199203 2 002

Pembimbing Kedua,

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

Pada 7 Juni 2013

PENGESAHAN

UJI TOKSISITAS AKUT
EKSTRAK AIR KASUMBA TURATE (*Carthamus tinctorius* L.)
PADA MENCIT (*Mus musculus*)

Oleh :

ANDI PUTRI AYUNINTIAS
N111 07 014

Telah dipertahankan di hadapan Panitia Penguji Skripsi
Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin
Pada tanggal : 7 Juni 2013

Panitia Penguji Skripsi :

1. Ketua : Prof.Dr.Gemini Alam, M.Si., Apt .....
2. Sekretaris : Dra.Hj.Aisyah Fatmawaty, M.Si.,Apt. .....
3. Anggota : Dr.Hj.Latifah Rahman, DESS., Apt. .....
4. Anggota (Ex Officio) : Prof.Dr.Elly Wahyudin, DEA., Apt .....
5. Anggota (Ex Officio) : Dra. Rahmawati Syukur, M.Si., Apt. .....
6. Anggota (Ex Officio) : Usmar, S.Si., M.Si., Apt. .....

Mengetahui :
Dekan Fakultas Farmasi
Universitas Hasanuddin

Prof. Dr. Elly Wahyudin, DEA., Apt.
NIP. 19560114 198601 2 001

PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa skripsi ini adalah karya saya sendiri, bukan merupakan karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu Perguruan Tinggi, dan sepanjang pengetahuan saya juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang tertulis diacu dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Apabila di kemudian hari terbukti bahwa pernyataan saya tidak benar, maka skripsi dan gelar yang diperoleh, batal demi hukum.

Makassar, Juni 2013

Penyusun

Andi Putri Ayunintias

UCAPAN TERIMA KASIH

Assalamualaikum Wr.Wb

Segala Puji hanyalah milik Allah SWT, atas limpahan rahmat dan hidayah-Nya serta kekuatan dan kemudahan yang senantiasa dianugrahkan-Nya kepada penulis sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi dengan judul " Uji Toksisitas Akut Ekstrak Air Kasumba Turate (*Carthamus Tinctorius* L.) Pada Mencit (*Mus Musculus*).

Penyusunan skripsi ini tidak terlepas dari bantuan dan motivasi dari berbagai pihak, untuk itu dalam kesempatan ini dengan tulus penulis mengucapkan terima kasih kepada :

1. Dekan dan para Wakil Dekan Fakultas Farmasi, Universitas Hasanuddin, Makassar
2. Ibu Prof.Dr. Elly Wahyudin, DEA., Apt. Selaku pembimbing utama, ibu Dra. Rahmawati Syukur, M.Si., Apt. Selaku pembimbing pertama dan Bapak Usmar, S.Si., M.Si., Apt selaku pembimbing kedua yang telah meluangkan waktu, dan ilmunya dalam memberikan bimbingan mulai dari perencanaan sampai terselesainya skripsi ini. Tak lupa kepada Bapak Drs. Kus Haryono, M.Si., Apt selaku penasehat akademik atas waktu, bimbingan dan nasehat-nasehatnya selama penulis menempuh pendidikan di Fakultas Farmasi UNHAS sampai terselesaikannya skripsi ini.
3. Tim penguji yang telah menyediakan waktu untuk menguji dan mem-berikan masukan untuk penyempurnaan skripsi ini.
4. Segenap Dosen, Asisten Dosen, Staf Laboratorium, dan Staf pegawai Fakultas Farmasi atas bantuannya selama ini.

5. Ayahanda Andi Amsal, Bc.Ku dan Ibunda Hj.A. Suriani, S.Pd tersayang, semua ini tiada artinya tanpa dukungan dan doa kedua orang tua tercinta. Saudaraku tersayang adikku A. Dwi Annisa Fahira, atas perhatian, kasih sayang, dukungan moril maupun materil serta doa yang tak pernah putus.
6. Seluruh Sahabat-sahabatku tanpa terkecuali yang selalu menemani baik suka maupun duka dan mendoakan baik dalam menjalani masa pendidikan dari awal semester hingga penulis menyelesaikan skripsi ini.
7. Kakanda Sukamto S Mamada S,Si., Apt. dan Maria Katanun S,Si. serta saudara Wiro Ratupanrita, atas segala bantuan, dukungan, dan masukan kepada penulis dalam pelaksanaan penelitian untuk merampungkan skripsi ini.
8. Christian Aspriamijaya dan Grisye Torri sebagai rekan kerja dalam menyelesaikan penelitian ini.
9. Segenap Komponen UKM Seni Tari Universitas Hasanuddin atas dukungan dan doanya selama ini.
10. Seluruh angkatan 2007 Farmasi UNHAS, 0ne7hink community, Serta Rekan-rekan dan semua pihak lain yang tidak sempat penulis sebutkan terima kasih atas bantuan dan doanya.

Akhir kata penulis menyadari bahwa dalam penulisan skripsi ini masih jauh dari kesempurnaan, Dengan segala kerendahan hati, penulis mengajak semuanya untuk bersama-sama saling memperbaiki dan melengkapi, saran dan kritik yang membangun sangat diharapkan. Semoga skripsi ini bermanfaat bagi para pembaca.

Makassar, Juni 2013

Andi Putri Ayunintias

DAFTAR ISI

Halaman

LEMBAR PENGESAHAN iv

LEMBAR PERNYATAAN v

UCAPAN TERIMA KASIH vi

ABSTRAK ix

ABSTRACT x

DAFTAR ISI xi

DAFTAR GAMBAR xiii

DAFTAR TABEL xiv

DAFTAR LAMPIRAN xv

BAB I PENDAHULUAN 1

BAB II TINJAUAN PUSTAKA 4

II.1 Uraian Tanaman 4

II.1.1 Klasifikasi Tanaman 4

II.1.2 Nama Daerah 4

II.1.3 Morfologi Tanaman 4

II.1.4 Kandungan Kimia 6

II.1.5 Pemanfaatan dan Kegunaan 7

II.2 Simplisia 7

II.3 Infundasi 8

II.3.1 Metode Infundasi 8

II.4 Uraian Mengenai Toksisitas 9

II.4.1 Mekanisme Terjadinya toksisitas …….. 11

II.4.2 Metode Pengujian Toksisitas …….. 12

II.4.3 Uji Toksisitas Akut …….. 13

II.4.4 Dosis Letal Menengah (LD_{50})…….. 15

II.4.5 Cara Penentuan LD_{50}……. 16

II.5 Sistem Saraf……..….. 17

II.6 Pemilihan dan Persyaratan Hewan Uji……. 19

BAB III METODOLOGI PENELITIAN 21

III.1 Alat dan Bahan yang Digunakan..... 21

III.2 pengambilan dan Penyiapan Sampel ..... ……. 21

III.3 Pembuatan Infusa..... ……. 21

III.4 Pemilihan dan Penyiapan Hewan Uji…….. 22

III.5 Perlakuan Terhadap Hewan Uji…… 22

III.6 Pengamatan……..... 22

III.7 Pengumpulan dan Analisis Data..... 24

III.7 Pembahasan Hasil……..... 24

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN 25

IV.1 Hasil Penelitian..... 25

IV.2 Pembahasan 25

BAB V PENUTUP..... 30

V.1 Kesimpulan..... 30

V.2 Saran..... 30

DAFTAR PUSTAKA 31

LAMPIRAN..... 33

DAFTAR GAMBAR

Gambar Halaman

1. Gambar bagian-bagian tanaman kasumba turate …….. 6

2. Mekanisme Keracunan..... 11

3. Tanaman Kasumba Turate (*Chartamus tinctorius* L.)..... 39

4. Hewan Coba Mencit (*Mus musculus*) 39

DAFTAR TABEL

Tabel Halaman

1. Data Efek Toksik Setelah Pemberian Ekstrak Air Kasumba Turate.....…….... 26

2. Data Jumlah Kematian Hewan Uji Setelah Pemberian Ekstrak Air Kasumba Turate 28

S

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran Halaman

1. Skema Kerja 33

2. Hubungan Antara Faktor Pembobotan dan Kategori Efek..... 34

3. Perhitungan Antara Banyaknya Efek Yang Tampak Dihubungkan Dengan Faktor Pembobotan Masing-masing Aktivitas Yang Diamati 35

4. Gambar-gambar pelaksanaan dan hasil penelitian…… 39

ABSTRAK

Telah dilakukan penelitian tentang uji toksisitas akut ekstrak air kasumba turate (*Carthamus tinctorius. L.*) pada mencit. Penelitian ini bertujuan untuk memperoleh gambaran tentang gejala-gejala toksik yang timbul pada mencit setelah pemberian ekstrak dan penentuan LD_{50}. Mencit yang digunakan sebanyak 60 ekor, terdiri atas 30 ekor mencit jantan dan 30 mencit betina, dibagi dalam 6 kelompok di mana setiap kelompok terdiri atas 5 ekor mencit jantan dan 5 ekor mencit betina. 1 kelompok diberi Air sebagai kontrol dan 5 kelompok diberi ekstrak air kasumba turate dengan dosis pemberian berturut-turut 1 mg/kg BB, 5 mg/kg BB, 50 mg/kg BB, 500 mg/kg BB dan 2000 mg/kg BB. Pengamatan efek toksik didasarkan atas perubahan tingkah laku mencit seperti peningkatan laju pernapasan, penurunan aktivitas gerak, kejang, urinasi, salivasi, diare dan kelumpuhan dengan waktu pengamatan berturut-turut 5, 10, 15, 30, 60, 120, 180 dan 240 menit. Untuk penentuan LD_{50} didasarkan pada jumlah mencit yang mati dalam setiap kelompok dalam waktu 24 jam sampai 7 hari. Analisis data menunjukkan bahwa efek toksik yang paling dominan adalah efek peningkatan laju pernapasan, penurunan aktivitas gerak, urinasi, dan diare. Sedangkan analisis LD_{50} dengan metode *Reed and Muench* tidak dapat dilakukan karena tidak terdapat kelompok dosis yang kematian hewan ujinya mencapai 50 persen atau lebih, sehingga ekstrak air kasumba turate dapat di kategorikan sebagai bahan yang praktis tidak toksik.

ABSTRACT

A research concerning the acute toxicity of the Kasumba Turate extract (*Carthamus tinctorius. L.)* on mice had been done. This research was to get description about the toxic symptoms and LD_{50}. Sixty mice were used, consist of the thirty female mice and thirty male mice, were divided into six groups, were each group consisted of five male and five female mice. One group was given water treated as a control and the other groups were administrated orally with kasumba turate extract with 1 mg/kg BB, 5 mg/kg BB, 50 mg/kg BB, 500 mg/kg BB, and 2000 mg/kg BB by respectively. The observation of toxic effect based on the change of mice's behavior such as increased respiratory rate, motor activity decreased, seizures, urination, salivation, diarrhea and paralysis in period 5, 10, 15, 30, 60, 120, 180 and 240 minutes. Determination of LD_{50} based on the number of dead mice from each group during 24 hours until 7 days. The result of toxic effect showed that the dominant toxic effect was increased respiratory rate ,depression central nervous system and muscle relaxation, salivation, and diarrhea. Analized of LD_{50} with method of Reed Muench and cannot be because not there are dose group which death of its test animal reach 50% or more, so that extract irrigate turate kasumba earn in categori practical upon which is not toxic.

BAB I

PENDAHULUAN

Pengobatan dan pendayagunaan obat tradisonal adalah salah satu program pelayanan kesehatan dasar serta merupakan suatu alternatif untuk memenuhi kebutuhan dasar penduduk di bidang kesehatan (1). Agar peranan obat tradisional, khususnya tanaman berkhasiat obat dalam pelayanan kesehatan lebih ditingkatkan, perlu didorong upaya pengenalan, penelitian, pengujian dan pengembangan serta keamanan suatu tanaman obat (1). Keraguan dalam pemanfaatan obat tradisional dapat teratasi dan masyarakat indonesia dapat menggunakan obat tradisional secara tepat dan aman karena telah melalui tahap pengujian secara ilmiah (2).

Bunga kasumba turate atau safflower (*Carthamus tinctorius* L.) merupakan salah satu jenis tanaman yang memiliki banyak khasiat, dikenal sebagai bahan tambahan kosmetik dan belum digunakan secara luas dalam pengobatan. Di Cina, bunganya digunakan untuk pengobatan pada penyakit seperti penyumbatan pembuluh darah di otak, rematik, bronkhitis, mem-perkuat sirkulasi darah, hati, juga menunjukkan efek yang bermanfaat pada sakit dan pembengkakan karena trauma. Selain itu juga biasanya digunakan oleh masyarakat di daerah Sulawesi Selatan sebagai obat tradisional untuk mengobati penyakit campak (morbili). Bunga kasumba turate (*Carthamus tinctorius* L.) mengandung 2 kelompok besar pigmen yang larut dalam air, yaitu carthamidin dan carthamin, yang berwarna orange-merah dan larut dalam larutan alkali. Bunganya mempunyai 0,3-0,6 % carthamin. Flavonoid, glikosida, sterol dan derivat serotonin telah diidentifikasi dari bunga dan biji (3).

Seduhan dari mahkota bunga kasumba turate yang dikeringkan juga memperlihatkan efek meningkatkan aktivitas antibodi imunoglobulin M (IgM) dan

imunoglobulin G (IgG) pada mencit (4). Oleh karena itu dibutuhkan serangkaian pengujian seperti uji khasiat, toksisitas, sampai uji klinik dengan didukung oleh pengembangan bentuk sediaan yang lebih baik agar efektifitasnya dapat dioptimalkan.

Uji toksisitas akut adalah salah satu uji pra-klinik. Uji ini dirancang untuk mengukur derajat efek toksik suatu senyawa yang terjadi dalam waktu singkat, yaitu 24 jam setelah pemberiannya dalam dosis tunggal. Tolak ukur kuantitatif yang paling sering digunakan untuk menyatakan kisaran dosis letal atau toksik adalah dosis letal tengah (LD_{50}). (5). Sedangkan data kualitatif yang diperoleh meliputi penampakan klinis, morfologis, dan mekanisme efek toksik (5).

Atas dasar tersebut dilakukan penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek toksisitas akut kasumba turate (*Carthamus tinctorius* L.) sebagai ekstrak air pada mencit yang diukur secara kuantitatif dengan LD50 dengan metode Reed dan Muench yaitu dengan menghitung jarak proporsi kemudian ditentukan logaritma perbandingan dosis dan menentukan nilai dosis kasumba turate (*Carthamus tinctorius* L.) sebagai ekstrak yang mengakibatkan kematian 50% populasi mencit. Dengan demikian dapat menjadi sumber informasi penelitian lebih lanjut mengenai toksisitas akut pemberian ekstrak air kasumba turate (*Carthamus tinctorius* L.) terhadap mencit dan memperkirakan resiko penggunaan kasumba turate pada manusia.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

II.1 Uraian Tanaman

II.1.1 Klasifikasi Tanaman (6, 7)

Kerajaan : Plantae

Divisi : Magnoliophyta

Anak Divisi : Angiospermae

Kelas : Magnoliopsida

Anak kelas : Sympetalae

Bangsa : Asterales

Suku : Asteraceae

Marga : Carthamus

Jenis : *Carthamus tinctorius* Linn.

II.1.2 Nama Daerah (6,7)

Jawa : Kembang pulu

Makassar : Kasumba Turate

Bugis : Rale’

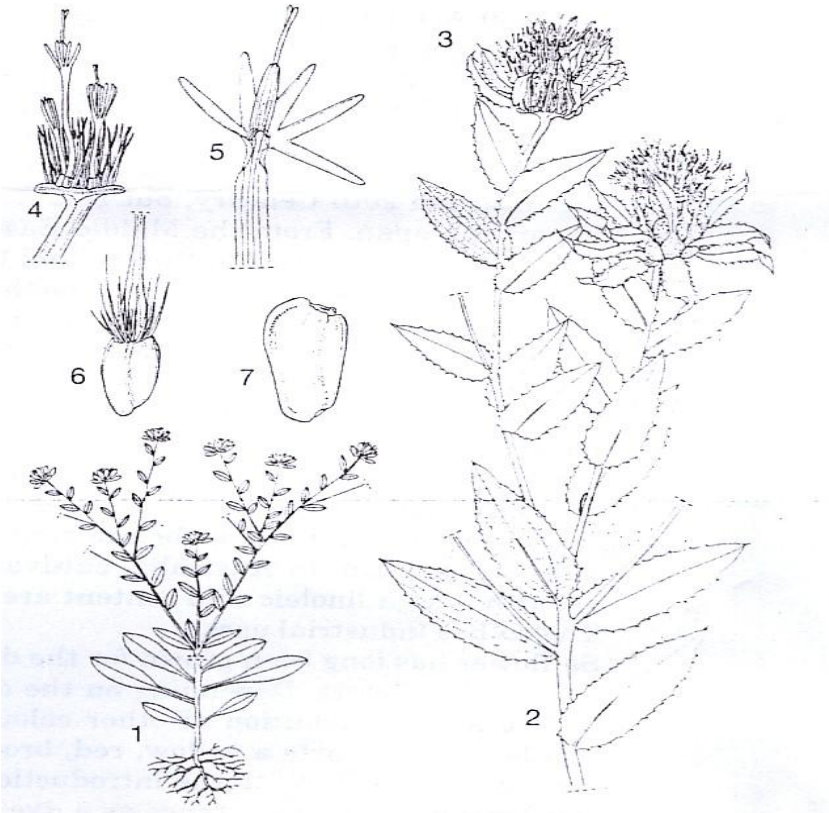
Umum : Kesumba

II.1.3 Morfologi Tumbuhan (6,7,8)

Tegak lurus bercabang banyak, tanaman menahun, tinginya 30-180 cm. Sistem akar terbentuk dengan baik, berwarna coklat kehijauan, akar tebal dan gemuk, menusuk sampai 3 m ke dalam tanah, cabang sampingnya tipis mendatar, sebagian besar terdapat di atas 30 cm. Tangkai berbentuk selinder, padat dengan intisari lunak, berkayu di dekat pangkal. Daun tersusun secara

spiral dengan ukuran 4-20 cm x 1-5 cm. Tepi daun berduri-bergerigi, berwarna hijau gelap mengkilap dan berbentuk herba ketika masih muda, berubah menjadi keras dan kaku setelah tua. Bagian kepala terletak di ujung berbentuk jambangan besar, panjang sekitar 4 cm dan diameter 2,5-4 cm, hanya mengandung bunga-bunga tunggal. Memiliki banyak kelopak *involucral*, tersusun spiral, bagian luar membujur dan menyempit diatas bagian dasar, 3-7 cm x 0,5-1,6 cm. Bagian atas seperti daun dan *spinescent*, tegak atau menyebar, tidak terkatup, dengan rambut panjang pada tepi bawah, berwarna hijau lebih muda daripada daun, bagian bawah terkatup, berwarna putih kehijauan, berambut panjang pada bagian luar, khususnya pada tepi, sedangkan pada bagian dalam *glabrous*; disekitar bagian tengah kepala, kontriksinya menjadi kurang jelas dan bagian yang seperti daun menjadi tidak nampak; kelopak yang paling dalam berbentuk lanset, 2-2,5 cm x 1-4 mm, ujung *spinescent*, *ciliate*. Dasar bunganya rata sampai berbentuk kerucut, banyak, tegak, bebulu putih dengan panjang 1-2 cm dan terdapat 20-80 bunga tunggal berkelamin ganda, tubular, aktinomorf, panjangnya sekitar 4 cm *glabrous,* kebanyakan berwarna jingga kemerahan yang menjadi merah gelap saat mekar, kadang-kadang kuning; mahkotanya tersusun oleh 5 lobus, panjang tubular 18-22 mm, lobus menyebar, sedikit *oblongata* sampai *linier*, 7 mm x 1 mm; benang sari 5, *epipetalous*, tertanam pada bagian mulut, filamen 1-2 mm, anthers 5 mm, berkumpul, membentuk kolom; ovarium berbentuk *elips,* panjangnya 3,5-4,5 mm, satu sel, satu ovulet, bearing cakram pada bagian atas; penghalang tipis, panjang 28-30 mm, *glabrous*, mendesak mulut

kolom serbuk sari, stigma panjangnya 5 mm, bifidus, kuning, dengan rambut pendek.



Gambar 1. Kasumba Turate (*Carthamus tinctorius* L.) : 1. Tanaman utuh; 2. Cabang tanaman dengan bunga; 3. Kuncup bunga; 4. Bunga lengkap; 5. Bagian apikal dari floret yang membuka; 6. Ovarium dengan pappus; 7. Achene dengan pappus. (Sumber : Van der Vosen, H.A.M, Umali B.E. *Plant Resources of South-East Asia: Vegetables oils and fats*. Volume 14. Backhuys Publishers Leiden. 2001. pp 72)

II.1.4 Kandungan Kimia (6)

Safflower (kasumba) mengandung 2 kelompok besar pigmen yang larut dalam air, yaitu *carthamidin* kuning dan *dye carthamin*, yang berwarna oranye-merah dan larut dalam larutan alkali. Bunganya mempunyai 0,3-0,6 % carthamin. Flavonoid, glikosida, sterol dan derivat serotonin telah diidentifikasi dari bunga dan biji.

II.1.5 Pemanfaatan dan Kegunaan (6,7,8)

Bunga kasumba turate atau safflower dikenal sebagai bahan tambahan kosmetik dan belum digunakan secara luas dalam pengobatan. Di Cina, bunganya digunakan untuk pengobatan pada penyakit seperti penyumbatan pembuluh darah diotak, sterilitas pada laki-laki, rematik dan bronkhitis, dan sebagai teh tonik untuk memperkuat sirkulasi darah dan hati. Pengobatan dengan safflower juga menunjukkan efek yang bermanfaat pada sakit dan pembengkakan karena trauma. Kasumba turate juga biasanya digunakan oleh masyarakat di daerah Sulawesi Selatan sebagai obat tradisional untuk mengobati penyakit campak (morbili).

II.2 Simplisia (9**)**

Simplisia adalah bahan alami yang digunakan untuk obat dan belum mengalami perubahan proses apa pun, dan kecuali dinyatakan lain umumnya berupa bahan yang telah dikeringkan. Berdasarkan hal itu maka simplisia dibagi menjadi tiga golongan yaitu :

1. Simplisia nabati adalah simplisia yang dapat berupa tanaman utuh, bagian tanaman, eksudat tanaman, atau gabungan ketiganya.
2. Simplisia hewani berupa hewan utuh atau zat-zat berguna yang dihasilkan oleh hewan dan belum berupa bahan kimia murni.
3. Simplisia pelikan atau mineral adalah simplisia berupa bahan pelikan atau mineral yang belum diolah dengan cara sederhana dan belum berupa bahan kimia murni.

II.3 Infundasi (10**)**

Infus adalah sediaan cair yang dibuat dengan menyari simplisia dengan air pada suhu 90^0 C selama 15 menit. Infundasi adalah proses penyarian yang umumnya digunakan untuk menyari zat kandungan aktif yang larut dalam air dari bahan-bahan nabati.

II.3.1 Metode Infundasi

Infus dibuat dengan cara :

1. Membasahi bahan bakunya, biasanya dengan 2 kali bobot bahan, untuk bunga 4 kali bobot bahan dan untuk karagen 10 kali bobot bahan.
2. Bahan baku ditambah dengan air dan dipanaskan selama 15 menit pada suhu 90^0 -98^0 C. umumnya untuk 100 bagian sari diperlukan 10 bagian bahan.Pada simplisia tertentu tidak diambil 10 bagian. Hal ini disebabkan karena :
   a. Kandungan simplisia kelarutannya terbatas, misalnya kulit kina digunakan 6 bagian.
   b. Disesuaikan dengan cara penggunaannya dalam Pengobatan, misalnya daun kumis kucing, sekali minum infus 100 cc, karena itu diambil ½ bagian.
   c. Berlendir , misalnya karagen di gunakan 1 ½ bagian.
   d. Daya kerjanya keras, misalnya digitalis digunakan ½ bagian.
3. Untuk memindahkan penyarian kadang-kadang perlu ditambahkan bahan kimia misalnya :
   a. Asam sitrat untuk infus kina.
   b. Kalium atau natrium karbonat untuk infus kelembek

4. Penyaringan dilakukan pada saat cairan masih panas, kecuali bahan yang mengandung bahan yang mudah menguap.

Infus dibuat dengan cara mencampur simplisia dengan derajat halus yang sesuai dalam panci secukupnya, panaskan di atas tangas air selama 15 menit terhitung mulai suhu mencapai 90^0 sambil berkali-kali diaduk. Serkai selagi panas melalui kain flanel, tambahkan air panas secukupnya melalui ampas hingga diperoleh volume infus yang dikehendaki.

II.4 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. Paracelcus (1564) telah meletakkan dasar penilaian dasar toksikologi dengan mengatakan bahwa dosis menetukan 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 (11,12).

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 (11).

Efek toksik yang terjadi sangat bervariasi dalam sifat, organ, sasaran maupun mekanisme kerjanya. Efek toksik dapat bersifat : (13)

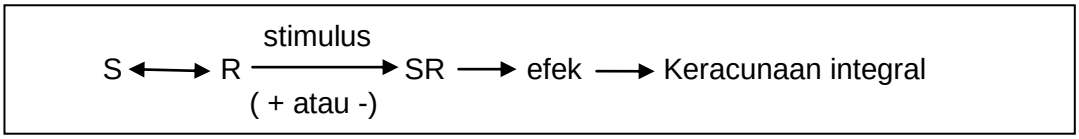
1. Lokal yaitu hanya terjadi pada tempat bahan toksik bersentuhan dengan tubuh, misalnya pada saluran pencernaan, iritasi gas atau uap saluran nafas.
2. Sistemik yaitu terjadi hanya setelah toksikan terserap dan tersebar kebagian tubuh lain. Umumnya toksikan hanya mempengaruhi satu atau beberapa organ saja.
3. Reversibel yaitu bila efek yang ditimbulkan dapat hilang dengan sendirinya atau dapat hilang beberapa waktu setelah pemaparan toksikan tertentu.
4. Irreversibel yaitu efek yang menetap atau justru bertambah parah setelah pemaparan toksikan terhenti.

Penilaian keamanan suatu obat atau zat kimia merupakan bagian penting dari toksikologi, karena setiap zat kimia yang baru disintesis dan akan dipergunakan harus diuji toksisitas dan keamanannya. Setiap zat kimia bila diberikan dengan dosis yang cukup besar akan menimbulkan gejala-gejala toksik (11).

II.4.1 Mekanisme Terjadinya Toksisitas

Semua keracunan mempunyai dasar suatu reaksi antara zat beracun dan struktur molekul tertentu dan badan. Kerusakan primer pada taraf molekular 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. (14)

Mekanisme keracunan sebagai berikut :



Gambar 2. Mekanisme keracunan. Hubungan S→ R menggambarkan reaksi suatu zat dan reseptor (Sumber : Koeman, JH, 1967. *Pengantar Umum Toksikologi.* Terjemahan Yudono RH, Gadjah Mada University Press. Yogyakarta, hal. 35).

Efek terjadi pada taraf subsellular atau sellular. Bila dosis yang diserap relatif kecil, kerusakannya dapat terbatas pada beberapa sel saja. Masih cukup banyak sel yang sehat untuk dapat tetap jalan 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 dengan urutan sel-jaringan-organ-individu (14).

II.4.2 Metode Pengujian Toksisitas (15)

Pada umumnya segala metode uji toksikologi dapat dibagi menjadi dua golongan, yaitu :

a. Golongan pertama, terdiri dari uji toksikologi yang dirancang untuk mengevaluasi keseluruhan efek umum suatu senyawa pada hewan uji. Uji-uji diidentifikasi sebagai uji toksisitas akut, uji toksisitas subkronis, dan uji toksisitas kronis. Uji toksisitas akut terdiri atas pemberian suatu senyawa kepada hewan uji pada suat saat dengan maksud untuk menentukan gejala kematian sebagai akibat dari pemberian senyawa tersebut. Uji toksisitas subkronis adalah suatu uji toksikologi yang bertujuan untuk secara umum

mengevaluasi dan menggolongkan segala efek senyawa apabila efek senyawa itu diberikan kepada hewan uji secara berulang-ulang, biasa sekali selama tiga sampai empat bulan. Uji toksisitas kronis adalah suatu uji toksikologi yang membutuhkan waktu yang lebih panjang, biasanya tidak kurang dari satu tahun dan sebelum suatu zat kimia baru dipertimbangkan untuk studi toksisitas kronis, maka informasi tentang sifat toksisitasnya, dan dosis letalnya harus sudah diketahui.

b. Golongan kedua, terdiri dari uji toksikologi yang dirancang untuk mengevaluasi dengan rinci tipe toksisitas spesifik adalah :

(1) uji potensi, yaitu uji toksisitas yang menentukan efek suatu zat dengan adanya zat-zat tambahan yang mungkin secara bersama-sama dijumpai, di mana toksisitas suatu zat diperkuat,

(2) uji teratogenik, yaitu uji toksisitas untuk menentukan efek terhadap janin (fetus) pada hewan bunting,

(3) uji reproduksi, yaitu uji toksisitas untuk menentukan efek atas kemampuan reproduksi hewan eksperimental,

(4) uji mutagenik, yaitu uji toksisitas untuk menentukan efek pada sistem kode genetik;

(5) uji kemampuan tumogenisitas dan karsinogenisitas, yaitu uji toksisitas untuk menentukan kemampuan zat untuk menimbulkan tumor;

(6) uji kulit dan mata, yaitu uji toksisitas untuk menentukan efek lokal zat bilamana zat-zat dipakai secara langsung pada kulit dan mata,

(7) uji perilaku, yaitu uji toksisitas untuk menentukan efek zat atas berbagai macam pola tingkah laku hewan.

II.4.3 Uji Toksisitas Akut

Toksisitas akut di definisikan sebagai efek berbahaya yang terjadi dalam waktu singkat setelah pemberian oral dosis tunggal suatu senyawa atau dalam waktu 24 jam hingga beberapa hari tergantung dari gejala yang ditimbulkannya. Gejala toksisitas akut dapat menyerupai tiap macam sindroma penyakit, sehingga selalu waspada dan mengingat kemungkinan keracunan pada saat sakit mendadak dan menunjukkan gejala-gejala seperti muntah, diare, konvulsi, koma dan sebagainya. Uji tunggal yang dilakukan atas segala zat kimia yang ada kaitannya dengan kepentingan biologi adalah uji toksisitas akut. Uji toksisitas akut terdiri atas pemberian suatu senyawa kepada hewan uji pada suatu saat. Uji ini dirancang untuk menentukan efek toksik suatu senyawa yang akan terjadi dalam waktu yang singkat setelah pemejanan atau pemberiannya dengan takaran tertentu. Uji ini dikerjakan dengan cara memberikan dosis tunggal senyawa pada hewan uji jantan dan betina (13,16).

Banyak penelitian tentang toksisitas akut telah dilakukan untuk menentukan LD_{50} senyawa-senyawa kimia. Tetapi LD_{50} tidak sama dengan toksisitas akut. Dan satu yang seharusnya diingat bahwa LD_{50} hanya satu dari beberapa petunjuk dalam menentukan batasan toksisitas akut. Evaluasi tidak hanya mengenai LD_{50}, tetapi juga terhadap kelainan tingkah laku, stimulasi atau depresi SSP, aktivasi motorik dan pernapasan untuk mendapatkan gambaran tentang sebab kematian. Biasanya pada penentuan LD_{50} pengamatan dilakukan selama 7 hari untuk senyawa-senyawa dosis tunggal (11,16).

Beberapa senyawa kimia akan menimbulkan kematian dengan takaran mikrogram sedangkan senyawa kimia lainnya relatif tidak berbahaya dengan takaran lebih dari bebebrapa gram. Menurut Doull (1986) mengemukakan klasifikasi tingkat keracunan berdasarkan LD_{50} sebagai berikut : (17)

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})

LD_{50} didefinisikan sebagai dosis atau konsentrasi yang diberikan sekali (tunggal) atau beberapa kali dalam 24 jam dari suatu zat yang secara statistik diharapkan dapat mematikan 50% hewan coba. 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 (kalo bisa lebih dai 10%) dari hewan itu (18).

Nilai LD_{50} telah digunakan untuk menggolongkan dan membandingkan toksisitas umum senyawa-senyawa kimia. Meskipun LD_{50} dan slope kurva dosis respon dapat memberikan informasi yang cocok pada toksisitas dari senyawa, LD_{50} tidak sama dengan toksisitas. Selain itu nilai LD_{50} yang diperoleh dapat digunakan untuk menetukan indeks terapinya, yaitu dengan membagi LD_{50} dengan ED_{50}, yang telah digunakan untuk memperkirakan batas keamanan dari

beberapa bahan-bahan obat. Makin tinggi indeks terapi, makin besar batas keamanan suatu obat (13).

II.4.5 Cara Penentuan LD_{50}

Ada beberapa cara untuk menentukan LD_{50}, beberapa di antaranya adalah sebagai berikut :

a. Metode Reed dan Muench (19)

Penentuan LD_{50} dengan menggunakan nilai komulatif. Diasumsikan bahwa hewan yang mati pada dosis tertentu akan mati pada dosis yang lebih besar, dan bahwa hewan yang tetap hidup akan bertahan hidup pada dosis yang lebih kecil. Jumlah kumulatif hewan yang telah mati dicatat dengan menambahkan berturut-turut isi kolom hewan yang mati. Prosentase yang telah mati untuk dua dosis yang berurutan dan dihitung dan kemudian diperbandingkan jarak dari 50% dihitung dan dikalikan dengan logaritma perbandingan peningkatan dosis berdekatan yang lebih kecil untuk mendapatkan logaritma LD_{50}

b. Metode Grafik (15,20)

Penentuan LD_{50} dengan metode ini menggunakan grafik hubungan antara presentase hewan percobaan yang mengalami kematian (ordinat) dan dosis yang diberikan pada hewan (absis). Dengan cara ini didapatkan kurva yang berbentuk S. Nilai LD_{50} dapat diperoleh dengan menarik garis lurus memotong kurva pada ordinat 50%.

c. Perhitungan secara Matematika

Perhitungan ini menggunakan rumus :

$$m = a – b\ (pi – 0,5)$$

di mana m adalah logaritma LD_{50}; a adalah logaritma dosis terendah yang masih menyebabkan jumlah kematian 100% tiap kelompok; b adalah beda logaritma dosis yang berurutan; pi adalah jumlah hewan yang mati menerima dosis; dibagi dengan jumlah hewan seluruhnya yang menerima dosis.

II.5 Sistem saraf

Sistem saraf dibagi menjadi 2, sistem saraf pusat (SSP) dan sistem saraf tepi atau perifer (SST). SSP terdiri dari otak dan medula spinalis, sedangkan SST terdiri dari sistem saraf otonom atau involunter (SSO) dan sistem saraf somatik atau volunter (SSS). SSO mempunyai efektor simpatik dan parasimpatik. Dalam tubuh kita transmisi informasi dari SSP ke berbagai organ (efektor) melalui perantaraan impuls listrik, hormonal atau neurotransmitter. Suatu zat dapat menimbulkan efek toksik dalam sistem saraf jika dapat mempengaruhi salah satu atau ketiga diatas secara berlebihan (18).

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 dua golongan berdasarkan efek farmakodinamik yang merangsang atau menghambat aktivitas otak, sum-sum tulang belakang dan saraf-sarafnya. Kedua golongan tersebut adalah sebagai berikut : (21)

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.

Saraf simpatis : perangsangan pada saraf simpatis (simpatomimetik) dapat memberikan efek berupa mulut kering, stimulasi SSP (gelisah) sedangkan penghambatan pada saraf simpatis (simpatolitik) dapat menyebabkan kontraksi otot-otot rangka.

Saraf parasimpatis : Perangsangan pada saraf parasimpatis (parasimpatomimetik) dapat memberi efek berupa stimulasi aktifitas saluran pencernaan, peristaltik usus, diperkuat dan sekresi – sekresi kelenjar ludah dan getah lambung. Efek lain dari perangsangan parasimpatis berupa kontraksi otot rangka, depresi SSP yang mula – mula menstimulasinya dan kontraksi saluran kemih dan ureter yang berefek mempelancar keluarnya air seni. Penghambatan pada saraf parasimpatis menyebabkan relaksasi otot mata dengan efek midriasis dan juga memperlihatkan efek sentral terhadap SSP yaitu merangsang pada dosis kecil dan menghambat pada dosis toksik (15).

Sitem saraf otonom juga disebut susunan saraf vegetatif, meliputi antara lain saraf-saraf dan ganglia yang merupakan persyarafan ke otot polos dan ganglia yang merupakan persyarafan ke otot polos berbagai organ (bronkus, lambung, usus, pembuluh) termasuk otot jantung serta beberapa kelenkar ludah, keringat dan pencernaan.

II.6 Pemilihan dan Persyaratan Hewan Uji

Karena 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 (13).

Jenis yang sering digunakan adalah mencit dan tikus, tetapi kadang-kadang kelinci dan anjing juga digunakan. Alasan memilih adalah karena murah dan mudah didapat, berkembang biak dengan cepat, jenis hewan ini ukurannya kecil sehingga mudah pemeliharannya dan tidak memerlukan biaya yang besar (13).

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 sebiknya berumur 2-3 bulan (11).

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 dalam tingkah laku dan harus diamati satu minggu dalam laboratorium atau pusat pemelharaan 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 (22).