

BAB I PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Tumbuhan telah menjadi salah satu sumber utama bahan alam yang digunakan dalam dunia pengobatan karena mengandung senyawa aktif yang dapat memberikan efek farmakologis. Sejak zaman dahulu, masyarakat telah memanfaatkan tumbuhan dalam pengobatan tradisional untuk menyembuhkan berbagai jenis penyakit. Efek farmakologis ini berasal dari kandungan senyawa seperti alkaloid, flavonoid, saponin, tanin dan minyak atsiri (Nasim et al., 2022). Hingga saat ini terdapat lebih dari 85-90% orang di dunia masih menggunakan pengobatan tradisional untuk mengatasi berbagai gangguan kesehatan (Wangchuks, 2018).

Penggunaan tumbuhan sebagai sumber bahan obat telah menjadi bagian penting dalam berbagai pengobatan baik tradisional maupun modern. Salah satu jenis tumbuhan yang menunjukkan potensi farmakologis yang tinggi adalah kecombrang (*Elingera elatior*). *Etlingera elatior* merupakan anggota famili *Zingiberaceae* yang tumbuh dan banyak dibudidayakan di wilayah Asia Tenggara (Azri et al., 2019). Bagian kecombrang (*Elingera elatior*) yang paling banyak digunakan dalam pengobatan adalah bagian buahnya yang mengandung flavonoid, saponin, fenol, terpenoid, tanin, glikosida, dan steroid. Senyawa-senyawa bioaktif tersebut yang diketahui memiliki sifat antimikroba, antiinflamasi, antikanker, serta antioksidan (Ernilasari et al., 2021).

Buah kecombrang (*Etlingera elatior*) diketahui memiliki potensi sebagai agen antibakteri. Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan oleh Ernilasari et al., (2021), ekstrak buah kecombrang menunjukkan kemampuan dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*, yang ditandai dengan terbentuknya zona hambat di sekitar ekstrak yang diuji. Aktivitas antibakteri tertinggi terhadap *Escherichia coli* diperoleh pada konsentrasi ekstrak 2% dengan diameter zona hambat sebesar 8,4 mm, diikuti oleh konsentrasi 1,5% (7,8 mm), dan 1% (2,5 mm). Selain itu, ekstrak buah kecombrang juga menunjukkan aktivitas terhadap *Staphylococcus aureus*, meskipun dengan efektivitas yang lebih rendah. Pada konsentrasi 2%, zona hambat yang terbentuk terhadap *Staphylococcus aureus* adalah 2,4 mm, sedangkan pada konsentrasi 1,5% dan 1% masing-masing sebesar 1,9 mm dan 0,7 mm. Hasil ini menunjukkan bahwa efektivitas antibakteri ekstrak kecombrang bergantung pada konsentrasi dan jenis bakteri uji, dengan aktivitas yang lebih kuat terhadap bakteri gram negatif (*Escherichia coli*) dibandingkan gram positif (*Staphylococcus aureus*).

Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan Fristiohady et al., (2020), ekstrak etanol dari buah kecombrang mempunyai efek nefroprotektif. Hal ini ditunjukkan dengan menurunnya kadar ureum pada tikus yang diinduksi CCl₄. Penurunan kadar ureum ini terjadi pada dosis ekstrak etanol buah kecombrang sebanyak 200, 300, dan 400 mg/kgBB (Fristiohadya et al., 2020). Berdasarkan penelitian yang dilakukan Nurhayatun et al., (2021), ekstrak metanol buah

kecombrang sebanyak 4,2 mg/20 g dapat menurunkan kadar NFkB pada mencit yang mengalami sepsis (Nurhayatun et al., 2021).

Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan oleh Azizah et al., (2021), menunjukkan bahwa jus buah kecombrang yang difermentasi menggunakan *Lactobacillus casei* tidak hanya berfungsi sebagai minuman probiotik, tetapi juga memiliki aktivitas antioksidan yang signifikan. Aktivitas ini diuji menggunakan metode DPPH dan menunjukkan bahwa semakin lama waktu fermentasi, maka semakin tinggi pula kemampuan jus kecombrang dalam menghambat radikal bebas. Pada fermentasi selama 28 jam, jus kecombrang menghasilkan persentase inhibisi tertinggi sebesar 9,900%, yang menunjukkan peningkatan kandungan senyawa fenolik bebas sebagai hasil dari proses fermentasi. Hal ini memperkuat potensi buah kecombrang sebagai bahan alami dalam pengembangan produk kesehatan.

Meskipun buah kecombrang memiliki berbagai efek farmakologi, penting untuk dipastikan bahwa penggunaan buah atau ekstrak buah kecombrang aman untuk tubuh. Oleh karena itu, dilakukan uji toksisitas sebagai langkah awal dalam evaluasi keamanan suatu bahan alam sebelum dikembangkan menjadi obat. Uji toksisitas merupakan suatu metode pengujian yang dilakukan untuk mengidentifikasi adanya efek beracun dari suatu zat terhadap sistem biologis. Pengujian ini juga bertujuan untuk memperoleh data karakteristik hubungan antara dosis dan respon yang ditimbulkan oleh bahan yang diuji. Informasi yang dihasilkan dari uji ini sangat penting sebagai dasar dalam menentukan tingkat risiko atau bahaya suatu bahan apabila terjadi paparan terhadap manusia, sehingga dapat digunakan dalam menetapkan batas aman penggunaannya (BPOM, 2022).

Pada penelitian Jabbar et al., (2019), dilakukan uji toksisitas akut terhadap ekstrak buah kecombrang yang bertujuan untuk membuktikan bahwa pemberian ekstrak buah kecombrang dalam dosis tinggi tidak menimbulkan gejala keracunan akut maupun kematian pada hewan uji dalam jangka pendek. Hasil uji toksisitas akut terhadap ekstrak etanol buah kecombrang (*Etlingera elatior*) menunjukkan bahwa nilai LD₅₀ berada pada angka 8649,679 mg/kgBB, yang secara toksikologis termasuk dalam kategori praktis tidak toksik. Meskipun tidak menimbulkan kematian dalam pengujian akut, pemeriksaan histopatologi pada organ jantung menunjukkan adanya gejala nekrosis pada hewan uji yang diberikan dosis 500 mg/kgBB, 5000 mg/kgBB, dan 15.000 mg/kgBB. Hal ini mengindikasikan bahwa meskipun secara sistemik ekstrak tidak menyebabkan kematian, namun terdapat kemungkinan efek toksik lokal yang perlu dikaji lebih lanjut.

Melihat adanya indikasi gejala toksik pada organ jantung meskipun nilai LD₅₀ tergolong aman, maka dilakukan uji toksisitas subkronis untuk mengevaluasi dampak paparan ekstrak buah kecombrang secara berulang terhadap fungsi fisiologis tubuh. Salah satu evaluasi penting dalam uji toksisitas subkronik adalah evaluasi parameter biokimia darah yang dapat memberikan gambaran mengenai fungsi metabolik dan kesehatan organ dalam, khususnya

hati dan sistem kardiovaskular. Dalam hal ini profil kolesterol darah, yaitu kadar kolesterol total dan trigliserida yang merupakan indikator penting. Kadar kolesterol total yang tinggi sering dikaitkan dengan peningkatan risiko penyakit kardiovaskular, sementara kadar trigliserida mencerminkan efisiensi metabolisme lemak dalam tubuh (Ratwita et al., 2021).

Hingga saat ini, belum ada penelitian yang membuktikan secara *in vivo* efek toksik ekstrak buah kecombrang secara subkronis. Dengan diketahuinya potensi yang terkandung di dalam tanaman kecombrang, maka dilakukan penelitian untuk mengetahui efek toksik ekstrak buah kecombrang terhadap komponen biokimia darah khususnya profil kolesterol pada tikus (*Rattus norvegicus*).

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang di atas, maka rumusan masalah penelitian ini, yaitu bagaimana efek toksik dari buah kecombrang (*Etlingera elatior*) terhadap profil kolesterol (kolesterol total dan trigliserida) pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang diberikan selama 28 hari?

1.3 Tujuan

Berdasarkan rumusan masalah di atas, maka tujuan penelitian ini yaitu untuk mengetahui efek toksik dari buah kecombrang (*Etlingera elatior*) terhadap profil kolesterol (kolesterol total dan trigliserida) pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang diberikan selama 28 hari.

BAB II

METODE PENELITIAN

2.1 Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini adalah botol kaca amber, cawan porselen, corong, desikator, gelas piala (Pyrex®), gelas ukur (Pyrex®), *hot plate*, Humalyzer 3500 (Human®), kanula tikus, labu ukur (Pyrex®), pipet tetes, *rotary evaporator* (Heidolph®), sendok tanduk, sonikator (Elmasonic®), *microtube*, tabung Vacutainer merah (VacuLab®), timbangan analitik (Ohaus®), vial kaca amber, dan *waterbath*.

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah air suling, buah kecombrang (*Etlingera elatior*), etanol 70%, eter, Na CMC, pakan tikus standar, *silica gel*, reagen kolesterol total, dan reagen trigliserida.

2.2 Metode Penelitian

2.2.1 Penyiapan Sampel

Sampel penelitian yang digunakan adalah buah kecombrang (*Etlingera elatior*) yang diambil dari Kota Masamba, Luwu Utara, Sulawesi Selatan, Indonesia. Buah yang dipilih adalah buah kecombrang (*Etlingera elatior*) yang matang secara fisiologis, segar, tidak rusak, dan bebas dari kontaminasi hama maupun penyakit.

2.2.2 Pembuatan Ekstrak Buah Kecombrang

Proses ekstraksi dilakukan dengan metode sonikasi, dimana serbuk buah kecombrang (*Etlingera elatior*) yang sudah dikeringkan dengan menggunakan oven pada suhu 60°C dimasukkan ke dalam botol kaca amber. Kemudian ditambahkan pelarut etanol 70% dengan perbandingan 1:30. Lalu dilakukan sonikasi selama 60 menit. Hasil sonikasi kemudian disaring menggunakan kertas saring. Filtrat yang didapatkan kemudian dipekatkan dengan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 60°C dan dikeringkan di atas penangas air. Ekstrak kering kemudian dipindahkan ke dalam vial amber dan disimpan pada suhu 4-8°C hingga ekstrak digunakan (Evary et al., 2025).

2.2.3 Pembuatan Larutan Uji

2.2.3.1 Pembuatan Larutan Uji Koloidal Na CMC 0,5% b/v

Larutan uji koloidal Na CMC 0,5% b/v dibuat sebanyak 500 mL. Sebanyak 2,5 g serbuk Na CMC dimasukkan sedikit demi sedikit ke dalam gelas *beaker* yang berisi aquades sebanyak 200 mL dengan suhu 70°C, diaduk hingga homogen, lalu dicukupkan hingga 500 mL (Lara et al., 2021).

2.2.3.2 Pembuatan Larutan Uji Ekstrak Buah Kecombrang

Pembuatan larutan uji dibuat dengan dosis 250 mg/kgBB, 500 mg/kgBB, dan 1000 mg/kgBB. Ekstrak kental ditimbang secara berturut-turut sebanyak 0,5 g, 1 g, dan 2 g, masing-masing dibuat dalam 20 mL untuk stok tiap harinya. Setiap larutan uji dibuat segar setiap hari dengan volume 20 mL.

2.2.4 Penyiapan Hewan Uji

Hewan uji yang digunakan dalam penelitian ini adalah tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang diperoleh dari Laboratorium Farmakologi dan Toksikologi Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin. Sebanyak 24 ekor tikus putih (*Rattus norvegicus*) dalam kondisi sehat dan dengan usia sekitar 6-8 minggu. Setelah itu hewan dikelompokkan secara acak sedemikian rupa sehingga penyebaran bobot badan merata untuk semua kelompok dengan variasi bobot badan tidak lebih dari 20% dari rata-rata berat badan, kemudian hewan diberikan dosis 250 mg/kgBB, 500 mg/kgBB, 1000 mg/kgBB (BPOM; Kusriani et al., 2021). Semua perlakuan yang dilakukan pada hewan uji sudah mendapatkan izin etik di komisi etik Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin dengan nomor UH12509210.

2.2.5 Perlakuan Hewan Uji

Pada penelitian ini sebanyak 24 hewan uji dibagi menjadi 4 kelompok perlakuan, yaitu sebagai berikut:

1. Kelompok I (Kontrol Na CMC): Hewan uji yang diberikan larutan koloidal Na CMC secara per oral (setiap hari selama 28 hari).
2. Kelompok II (EBK 250 mg/kgBB): Hewan uji yang diberikan EBK 250 mg/kgBB secara per oral (setiap hari selama 28 hari).
3. Kelompok III (EBK 500 mg/kgBB): Hewan uji yang diberikan EBK 500 mg/kgBB secara per oral (setiap hari selama 28 hari).
4. Kelompok VI (EBK 1000 mg/kgBB): Hewan uji yang diberikan EBK 1000 mg/kgBB secara per oral (setiap hari selama 28 hari).

2.2.6 Pengambilan Darah dan Pengukuran Profil Kolesterol

Pengambilan darah hewan coba dilakukan pada hari ke-29. Hewan coba dianestesi dengan metode inhalasi eter selama 5-10 menit. Kemudian apabila hewan sudah mulai hilang kesadaran dilakukan pengambilan sampel darah melalui vena retro orbital dengan menggunakan pipa kapiler. Darah ditampung dalam tabung *vacutainer* merah sebanyak 3-5 mL, selanjutnya darah disentrifugasi selama 15-20 menit dengan kecepatan 3000 rpm. Kemudian, serum yang dihasilkan dipisahkan menggunakan mikropipet, lalu dipindahkan ke dalam *microtube* dan ditambahkan reagen kolesterol total dan trigliserida untuk mengukur kadar kolesterol total dan trigliserida menggunakan alat *humalyzer*. Pengukuran kadar kolesterol total dan trigliserida dilakukan di Laboratorium Farmasi Klinik Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin.

2.2.7 Analisis Data

Data hasil penelitian yang diperoleh dikumpulkan dan dianalisis menggunakan pendekatan statistik dengan bantuan *software GraphPad Prism 9*. Pendekatan statistik yang digunakan ialah *One-Way ANOVA* dengan uji lanjutan *Dunnnett's multiple comparisons test*. Data hasil statistik yang telah diperoleh kemudian dibahas dan dibuat kesimpulan.