

**UJI TOKSISITAS SUBKRONIK EKSTRAK METANOL
DAGING BUAH MAHKOTA DEWA (*Phaleria macrocarpa*)
TERHADAP GAMBARAN HISTOPATOLOGIS TESTIS
MENCIT**

Karya Tulis Ilmiah
Untuk Memenuhi Sebagian Syarat
Memperoleh Derajat Sarjana Kedokteran

PROGRAM STUDI PENDIDIKAN DOKTER



Oleh :
Muhammad Kemal Nur Riesmawan
15711228

**FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS ISLAM INDONESIA
YOGYAKARTA
2018**

**SUBCHRONIC TOXICITY TEST OF MAHKOTA DEWA
FRUIT (*Phaleria macrocarpa*) METHANOL EXTRACT ON
TESTICULAR HISTOPATHOLOGY OF MICE**

A Scientific Paper
Submitted as Fulfillment
to Obtain the Medical Degree

Medical Education Program



By :
Muhammad Kemal Nur Riesmawan
15711228

**MEDICAL FACULTY
UNIVERSITAS ISLAM INDONESIA
YOGYAKARTA
2018**

**UJI TOKSISITAS SUBKRONIK EKSTRAK METANOL DAGING BUAH
MAHKOTA DEWA (*Phaleria macrocarpa*) TERHADAP GAMBARAN
HISTOPATOLOGIS TESTIS MENCIT**

**Muhammad Kemal Nur Riesmawan¹, Evy Sulistyoningrum², Dwi Nur
Ahsani², Ika Fidianingsih²**

¹Mahasiswa Pendidikan Dokter Fakultas Kedokteran Universitas Islam Indonesia

²Departemen Histologi Fakultas Kedokteran Universitas Islam Indonesia

INTISARI

Latar belakang : Obat herbal dapat menjadi toksik ketika digunakan pada jumlah yang tidak tepat. Buah mahkota dewa adalah buah yang bisa dimanfaatkan sebagai tanaman herbal. Mahkota dewa telah diteliti memiliki efek terapeutik seperti antidiabetik, antioksidan, dan lain-lain. Walaupun sudah terbukti memiliki efek terapeutik, masih belum ada penelitian tentang efek toksik terhadap organ reproduksi testis. Evaluasi pada organ reproduksi berkaitan dengan berlangsungnya makhluk hidup.

Tujuan : Mengetahui efek toksisitas subkronik ekstrak metanol daging buah mahkota dewa secara oral terhadap gambaran histopatologis testis mencit.

Metode : Ekperimental murni dengan pendekatan *post-test only controled group*. Pengamatan pada 20 preparat bahan biologi tersimpan *Mus musculus Balb/C* yang diinduksi ekstrak metanol daging buah mahkota dewa (EDMD) melalui sonde per oral. Pembagian kelompok A=kontrol, B=EDMD 17,5 mg/kgBB, C=EDMD 35 mg/kgBB, D=EDMD 70 mg/kgBB. Diameter tubulus seminiferus diukur tiap potongan testis mencit menggunakan mikroskop cahaya perbesaran 100x.

Hasil : Keempat kelompok tidak memiliki perbedaan diameter tubulus seminiferus yang bermakna ($p>0,05$). Rerata diameter tubulus seminiferus pada kelompok A (185,85±7,559), kelompok B (201,30±11,06), kelompok C (194,83±15,345), kelompok D (184,43±6,209).

Kesimpulan : Tidak terdapat efek toksisitas subkronik pada pemberian ekstrak metanol daging buah mahkota dewa dengan dosis 17,5 mg/kgBB, 35 mg/kgBB, dan 70 mg/kgBB terhadap gambaran histopatologis testis mencit.

Kata kunci : uji toksisitas, subkronik, *Phameria macrocarpa*, testis, tubulus seminiferous, diameter, mahkota dewa

SUBCHRONIC TOXICITY TEST OF MAHKOTA DEWA FRUIT (*Phaleria macrocarpa*) METHANOL EXTRACT ON TESTICULAR HISTOPATHOLOGY OF MICE

Muhammad Kemal Nur Riesmawan¹, Evy Sulistyoningrum², Dwi Nur Ahsani², Ika Fidianingsih²

¹Medical Student Faculty of Medicine Islamic University of Indonesia

²Departement of Histology Faculty of Medicine Islamic University of Indonesia

ABSTRACT

Background : Herbal medicine can be toxic if not used in correct dosage. Mahkota dewa fruit is a fruit that can be used as herbal plant. Mahkota has been known for theapuetic effect such as antidiabetic, antioxidant, and many more. Testis is one of the organ that can be assessed to determine the toxic effect. Although the therapuetic effect has been known, there are still no research about the effect on testis. Assessment of reproductive organ relate to continuity of living things.

Objective : The aim of this study is to investigate the subchronic toxic effect of mahkota dewa fruit methanol extract via oral on testicular histopathology of mice.

Method : This experimental study designed by post test only controlled group. The assessment used 20 biological preparation of *Mus musculus Balb/C* which inducted by mahkota dewa fruit methanol extract (MDME) via oral. A group=control, B group=MDME 17,5 mg/kgBB, C group=MDME 35 mg/kgBB, D group=MDME 70 mg/kgBB. Tubulus seminiferous diameter is measured on each testicular slice using microscope on 100x magnification.

Result : The result showed there were no significat differences in the tubulus seminiferous diameter on all groups ($p>0,05$). The mean of tubulus seminiferous diameter in A group ($185,85\pm7,559$), B group ($201,30\pm11,06$), C group ($194,83\pm15,345$), D group ($184,43\pm6,209$).

Conclusion : There are no subchronic toxic effect of mahkota dewa fruit methanol extract administration at a dose of 17,5 mg/kgBB. 35 mg/kgBB, and 70 mg/kgBB on testicular histopathology of mice.

Keyword : toxicity test, subchronic, *Phameria macrocarpa*, testis, tubulus seminiferous, diameter, mahkota dewa

PENDAHULUAN

Obat herbal masih menjadi salah satu andalan untuk menjadi penanganan masalah kesehatan pada 75-80% seluruh populasi di dunia, terlebih di negara berkembang. Obat herbal tradisional adalah obat alami yang memiliki turunan substansi berasal dari tanaman dengan proses minimal atau tanpa pengolahan industri dan digunakan sebagai pengobatan. Alasan penggunaan obat herbal adalah murah, banyak tersedia, dan dipercaya tidak memiliki efek samping.¹

Penggunaan obat herbal sayangnya tidak selalu aman.² Obat herbal dapat menjadi toksik ketika digunakan pada indikasi yang tidak tepat, dosis yang sangat besar, atau digunakan dengan jangka waktu yang lama.³ Beberapa suplemen obat herbal dilaporkan memiliki efek samping berupa hepatotoksik.²

Tanaman mahkota dewa atau *Phaleria macrocarpa* adalah tanaman herbal asli berasal dari Pulau Papua di Indonesia.^{4,5} Kandungan antioksidan seperti alkaloid, saponin, dan phalerin pada tanaman ini memiliki manfaat yang bermacam-macam. Zat antioksidan ini berperan dalam

penekanan jumlah *Reactive Oxygen Species* (ROS) yang merupakan radikal bebas. Buah ini diyakini memiliki berbagai macam senyawa untuk pengobatan penyakit seperti kanker, diabetes, hiperkolesterolemia, hipertensi, dan sebagainya.⁶

Testis merupakan salah satu alat reproduksi jantan yang berfungsi sebagai tempat spermatogenesis dan steroidogenesis. Fungsi ini sangat penting dalam menghasilkan keturunan. Spermatogenesis terjadi di dalam tubulus seminiferus dengan bantuan Sel Sertoli, sedangkan Sel Leydig merupakan sel yang berperan dalam steroidogenesis. Alat reproduksi ini sangat sensitif terhadap berbagai faktor kondisi lingkungan, salah satunya adalah penggunaan obat-obatan.⁷

Walaupun manfaat farmakologi mahkota dewa banyak diteliti, masih sedikit data yang melaporkan potensi toksisitasnya. Hasil penelitian yang sudah ada menyatakan bahwa penggunaan buah mahkota dewa tanpa biji termasuk dalam kategori tidak toksik.⁸ Penelitian kali ini bertujuan untuk mengetahui toksisitas subkronik ekstrak metanol daging buah mahkota

dewa pada gambaran histopatologis testis mencit.

METODE

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental murni menggunakan desain *post test only control group*. Subjek yang digunakan pada penelitian ini 20 ekor *Mus musculus Balb/C* yang telah memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi. Kriteria inklusi subjek pada penelitian ini adalah mencit jenis kelamin jantan, berumur 6-8 minggu, berat badan 20-30 gram, sehat (tanpa luka, hilit dan bulu halus, aktif bergerak, dan tidak terdapat kelainan anatomis). Kriteria eksklusi adalah mencit yang mati selama aklimatisasi dan perlakuan berlangsung. Subjek dibagi secara acak menjadi empat kelompok, yaitu A, B, C, dan D. Kelompok A merupakan kelompok kontrol yang diberi induksi akuades 1 ml per oral setiap hari. Kelompok B merupakan kelompok yang diberi perlakuan induksi ekstrak metanol daging buah mahkota dewa dengan dosis 17,5 mg/kgBB setiap hari per oral. Kelompok C merupakan kelompok yang diberi perlakuan induksi ekstrak metanol daging buah mahkota dewa dengan dosis 35

mg/kgBB setiap hari per oral. Kelompok D merupakan kelompok yang diberi perlakuan induksi ekstrak metanol daging buah mahkota dewa dengan dosis 70 mg/kgBB setiap hari per oral. Perlakuan dilakukan selama 28 hari. Pakan untuk hewan coba diberikan secara *ad libitum*.

Penilaian diameter tubulus seminiferus dilakukan di Laboratorium Riset Fakultas Kedokteran Universitas Islam Indonesia. Sampel didapatkan dari testis bagian kanan mencit melalui proses pembedahan, lalu ditimbang. Selanjutnya, sampel dimasukkan ke dalam larutan PBS formalin 10% dan dibuat preparat histopatologi dengan metode parafin. Selanjutnya sayatan dicat menggunakan HE.

Setelah preparat siap, dilakukan pengamatan diameter tubulus seminiferus menggunakan mikroskop dengan perbesaran 100x sebanyak 5 lapang pandang. Tiap lapang pandang akan diambil gambarnya menggunakan *OptiLab*. Setelah itu diameter tubulus seminiferus diukur menggunakan aplikasi *Image Raster*. Pengukuran dilakukan dalam satuan mikrometer (μm).

Data hasil pengamatan dianalisis menggunakan *software* IBM SPSS *Statistic* dengan uji normalitas *Saphiro Wilk*. Jika syarat uji parametrik terpenuhi, maka dilanjutkan dengan analisis uji *One Way ANOVA*. Apabila tidak memenuhi syarat, maka analisis yang digunakan adalah uji *Kruskal Wallis*. Jika nilai *p* dari data masing-masing kelompok <0.05 (*p value* <0.05) maka dapat dinyatakan terdapat perbedaan bermakna dari masing-masing kelompok.

HASIL

Subjek penelitian adalah 20 ekor *Mus musculus Balb/C* yang dibagi menjadi empat kelompok, yaitu A, B, C, dan D dengan jumlah masing-masing 5 ekor mencit tiap kelompok.

Nilai rata-rata diameter tubulus seminiferus kelompok A sebesar $185,85 \pm 7,559 \mu\text{m}$, kelompok B sebesar $201,30 \pm 11,06 \mu\text{m}$, kelompok C sebesar $194,83 \pm 15,345 \mu\text{m}$ dan kelompok D sebesar $184,43 \pm 6,209 \mu\text{m}$. Uji normalitas dilakukan dengan metode *Saphiro Wilk*. Hasil uji *Saphiro Wilk* didapatkan $p > 0,05$ yang menunjukkan data terdistribusi normal. Setelah uji normalitas,

dilakukan uji variansi yang dilakukan dengan *Test of Homogeneity of Variances Levene Statistic*. Hasil uji variansi didapatkan data adalah homogen. Karena syarat uji parametrik terpenuhi, maka dilakukan uji parametrik *One Way Analysis of Varian* (ANOVA).

Hasil analisis uji parametrik ANOVA diperoleh nilai $p = 0,075$ yang berarti tidak terdapat perbedaan bermakna pada diameter tubulus seminiferus pada minimal 2 kelompok perlakuan. Hal ini menunjukkan bahwa perlakuan pemberian ekstrak metanol daging buah mahkota dewa tidak menimbulkan efek toksisitas subkronik pada gambaran histopatologi testis hewan coba.

Tabel 1. Tabel Rerata Diameter Tubulus Seminiferus (μm)

Kel.	Rata-Rata Luas Islet Langerhans (μm)					Nilai Mean (μm)	Standar Deviasi
	1	2	3	4	5		
A	185,21	182,54	197,95	186,13	177,44	185,85	7,559
B	189,68	215,75	205,27	190,60	205,21	201,30	11,06
C	184,59	216,39	179,70	188,4	204,99	194,83	15,345
D	181,52	191,90	188,76	183,9	176,01	184,43	6,209

Kelompok kontrol dengan pemberian akuades 1 ml (kelompok A), kelompok dengan pemberian ekstrak metanol daging buah mahkota dewa 17,5 mg/kgBB (kelompok B), 35 mg/kgBB (kelompok C), 70 mg/kgBB (kelompok D).

Tabel 2. Uji *One Way ANOVA* Diameter Tubulus Seminiferus

Kelompok	Rerata \pm SD (μm)	Nilai p
A	185,85 \pm 7,559	0,075
B	201,30 \pm 11,06	
C	194,83 \pm 15,345	
D	184,43 \pm 6,209	

PEMBAHASAN

Hasil analisis statistik menunjukkan tidak terdapat perbedaan bermakna pada rerata diameter tubulus seminiferus kelompok A, B, C, dan D. Hal tersebut konsisten dengan penelitian sebelumnya, bahwa peneliti melaporkan bahwa pemberian infusa daging buah mahkota dewa pada tikus putih *Rattus norvegicus* jantan model diabetes melitus memiliki diameter tubulus seminiferus yang lebih tinggi dibandingkan dengan kelompok lain.⁹ Dapat disimpulkan bahwa dari penelitian tersebut infusa daging buah

mahkota dewa tidak memiliki efek toksik, bahkan terdapat efek perbaikan pada jaringan testis.

Sel yang ada di dalam tubuh secara rutin menghasilkan beberapa zat yang mengakibatkan timbulnya stres oksidatif, diantaranya adalah radikal bebas dan ROS.¹⁰ Zat tersebut merupakan hasil dari metabolisme tubuh. Produksi radikal bebas maupun ROS yang melebihi kadar antioksidan akan menyebabkan stres oksidatif.¹¹ Diperlukan adanya keseimbangan antara radikal bebas dan antioksidan agar testis dapat

menjalankan fungsinya, karena jika sistem biologis tubuh gagal menangani tingginya radikal bebas maka sel dan jaringan yang ada di dalam testis dapat menimbulkan jejas yang berarti.¹² Kondisi stres oksidatif pada testis dapat mengakibatkan kerusakan sel germinal sehingga terjadi penurunan diameter pada tubulus seminiferus.¹³

Komponen dalam ekstrak metanol buah mahkota dewa memiliki zat aktif yang cukup tinggi. Zat aktif tersebut berfungsi sebagai antioksidan, seperti saponin dan flavonoid. Zat antioksidan ini menghalangi aktifnya radikal bebas yang dapat merusak sel dalam tubulus seminiferus.¹⁴ Flavonoid memiliki peran dalam meningkatkan jumlah dan aktivitas antioksidan yang ada di saluran reproduksi maskulin. Selain itu, zat aktif ini juga menghambat apoptosis pada sel germinal dan memiliki sifat sitoprotektif pada jaringan testis.¹⁵

Berdasarkan penelitian ini didapatkan bahwa pemberian ekstrak metanol daging buah mahkota dewa dengan rentang dosis 17,5-70 mg/kgBB pada *Mus musculus Balb/C* masih dalam batas aman pada uji

toksistas subkronik di bagian sistem reproduksi jantan.

KESIMPULAN

Tidak terdapat efek toksistas subkronik pada pemberian ekstrak metanol daging buah mahkota dewa dengan dosis 17,5 mg/kgBB, 35 mg/kgBB, dan 70 mg/kgBB terhadap gambaran histopatologis testis mencit.

SARAN

Perlu dilakukan pengambilan data atau pengukuran pada variabel lainnya selain pengukuran diameter tubulus seminiferus agar dapat memperoleh hasil yang komprehensif. Perlu pula dilakukan penelitian lanjutan berupa uji toksistas kronik oral apabila ingin mengaplikasikan hasil penelitian ini sebagai salah satu pilihan terapi

REFERENSI

1. Majaz, Q.A., Khirsid, M.I., 2016 Herbal Medicine: A Comprehensive Review, *International Journal of Pharmaceutical Research* 8(2):1-5
2. Chen, G.C., Ramanathan, V.S., Law, D., Funchain, P., Chen, G.C., French, S., *et al.*, 2010 Acute Liver Injury Inducted by

- Weight-Loss Herbal Supplements, *World Journal Hepatology* 2(11):410-415
3. Phua, D.H., Zosel, A., Heard, K., 2009, Dietary Supplements and Herbal Medicine Toxicities- When to Anticipate Them and How to Manage Them, *International Journal Emergency Medicine* 2(2):69-76
 4. Alara, O.R., Alara, J.A., Olalere, O.A., 2016, Review on *Phaleria Macrocarpa* Pharmacological and Phytochemical Properties, *Drug Designing* 5(3):1-5
 5. Parhizkar, S., Zainudin, C.Z., Dollah, M.A., 2013, Effect of *Phaleria macrocarpa* on Sexual Function of Rats, *Avicenna Journal of Phytomedicine* 3(4):371-377
 6. Parhizkar, S., Zulkifli, S.B., Dollah M.A., 2014, Testicular Morphology of Male Rats Exposed to *Phaleria macrocarpa* (Mahkota Dewa) Aqueous Extract, *Irian Journal of Basic Medical Science* (17):384-390
 7. D'Cruz, R.M., Vaithinathan, S., Dragomir, C., 2010, Effect of Plants and Plant Products on The Testis, *Asian Journal of Andrology* 12(4):468-497
 8. Widowati, L., Pudjiastuti, Nuratmi, B., 2005, Uji Toksisitas Akut Ekstrak Mahkota Dewa pada Hewan Coba, *Media Litbang Kesehatan* 15(1):6-10
 9. Sulistyoningrum, E., Setiawati, Nindyastuti, S., Putra, A.N., 2012, Infusa Daging Buah Mahkota Dewa Memperbaiki Kerusakan Testis dan Parameter Sperma Tikus Diabetik, *Sains Medika* 4(2):115-123
 10. Daniel, R.M., Stelian, S., Dragomir, C., 2010, The Effect of Acute Physical Exercise on The Antioxidant Status of The Skeletal and Cardiac Muscle in The Wistar Rat, *Romanian Biotechnological Letters* 15(3):56-61
 11. Sinaga, F.A., 2016, Stress Oksidatif dan Status Antioksidan pada Aktivitas Fisik Maksimal, *Jurnal Generasi Kampus* 9(2):176-189
 12. Nematollah, A., Bahmani, M., Kheadmand, A., Kopaei, M.R., 2017, The Impact of Oxidative Stress on Testicular Function and The Role of Antioxidant in

Improving it: A Review, *Journal of Clinical and Diagnostic Research* 11(5):1-5

13. Munaya, N., Brahmadi, E., Sakti, Y.B.H., 2018, Efek Stres Puasa terhadap Ketebalan Epitel dan Diameter Tubulus Seminiferus *Rattus Novergicus Mutiara Medika: Jurnal Kedokteran dan Kesehatan* 18(1):1-7
14. Lukacinova, A., Mojzis, J., Benacka, R., Keller, J., Maguth, T., Kurila, P., Vasko, L., *et al.*, 2008, Preventive Effects of Flavonoids on Alloxan-Induced Diabetes Melitus in Rats, *Acta Veterina* 77:175-182
15. Khaki, A., Nouri, M., Fathiazad, F., Ahmadi, A.H.R., Rastgar, H., Rezazadeh, S.H., 2009, Effects of Quarcetin on Spermatogenesis in Streptozotocin Induced Diabetic Rat, *Journal of Medical Plant* 8(5):57-64

