

## **BAB II**

### **STUDI PUSTAKA**

#### **2.1 Tinjauan Pustaka**

##### **2.1.1 Uji Toksisitas Akut**

###### **2.1.1.1 Definisi**

Uji toksisitas akut merupakan suatu pengujian untuk mendeteksi gejala ketoksikan yang mungkin muncul pada manusia dalam waktu singkat setelah pemberian sediaan uji secara oral dalam dosis tunggal atau dosis berulang yang diberikan dalam waktu 24 jam kemudian diamati selama 14 hari. Prinsip uji toksisitas akut secara oral yaitu sediaan uji pada beberapa tingkatan dosis tertentu diberikan kepada beberapa kelompok hewan uji dengan satu dosis per kelompok dan selanjutnya dilakukan pengamatan gejala ketoksikan atau adanya kematian. Kemudian, hasil uji toksisitas menggunakan hewan uji hanya dapat dijadikan sebagai petunjuk adanya toksisitas relatif bila terjadi pemaparan pada manusia. (BPOM RI, 2014).

Tujuan dari pengujian ini yaitu untuk mendeteksi adanya toksisitas intrinsik suatu zat, menentukan organ sasaran, kepekaan spesies, memperoleh informasi efek toksik setelah pemaparan zat, memperoleh informasi awal untuk penetapan tingkat dosis, menentukan uji toksisitas selanjutnya, serta memperoleh nilai LD<sub>50</sub> suatu bahan (BPOM RI, 2014)

###### **2.1.1.2 Nilai LD<sub>50</sub>**

Nilai LD<sub>50</sub> merupakan dosis yang menimbulkan efek mematikan pada 50% hewan uji, dengan kesimpulan bahwa semakin besar LD<sub>50</sub> suatu obat maka semakin aman obat tersebut. Selain itu, nilai LD<sub>50</sub> dapat mengklasifikasikan potensi suatu zat berdasarkan toksisitas relatifnya, memberikan informasi tentang mekanisme ketoksikan yang terjadi, mengevaluasi efek keracunan yang tidak disengaja pada hewan uji, faktor-faktor yang mempengaruhi ketoksikan, serta perubahan fisik yang mempengaruhi bioavailabilitas. Adapun Nilai LD<sub>50</sub> digunakan sebagai tolak ukur

kuantitatif dalam uji toksisitas akut (Hodgson, 2010). Penentuan nilai LD<sub>50</sub> pada prosedur OECD 425 dengan *limit test* adalah ketika dosis telah diberikan pada 5 hewan uji dan jika tiga atau lebih hewan uji tetap hidup maka LD<sub>50</sub> lebih besar dari 2000 mg/kgBB. Adapun jika tiga atau lebih hewan uji mengalami kematian maka LD<sub>50</sub> kurang dari 2000 mg/kgBB dan selanjutnya dilakukan *main test*. Penggolongan toksisitas sediaan uji berdasarkan nilai LD<sub>50</sub> dapat dilihat pada Tabel 2.1.

**Tabel 2.1** Penggolongan Sediaan Uji pada Tikus (BPOM RI, 2014)

<b>Tingkat Toksisitas</b>	<b>LD<sub>50</sub> oral</b>	<b>Klasifikasi</b>
1	≤ 1 mg/kg	Sangat toksik
2	1-50 mg	toksik
3	50-500 mg	Toksik sedang
4	500-5000 mg	Toksik ringan
5	5-15 g	Praktis tidak toksik
6	≥ 15 g	Relatif tidak membahayakan

#### 2.1.1.3 Pengamatan Uji Toksisitas

Pengamatan dilakukan pada hewan uji selama 4 jam pertama setelah pemberian dosis, secara berkala selama 24 jam pertama, lalu setiap hari setelahnya selama total 14 hari. Adapun hal-hal yang perlu diamati adalah waktu ketika munculnya tanda-tanda ketoksikan. Pengamatan harus mencakup perubahan pada kulit dan bulu, mata dan selaput lendir, sistem pernafasan, sirkulasi, sistem syaraf pusat dan otonom, dan aktivitas somatomotor dan pola perilaku. Selain itu, pengamatan pada intensitas gejala tremor, kejang, air liur, diare, kelesuan, tidur dan koma. Ketika hewan uji mengalami kematian, maka perlu dilakukan pencatatan waktu kematian hewan uji tersebut (OECD, 2008).

#### 2.1.1.4 Metode OECD 425

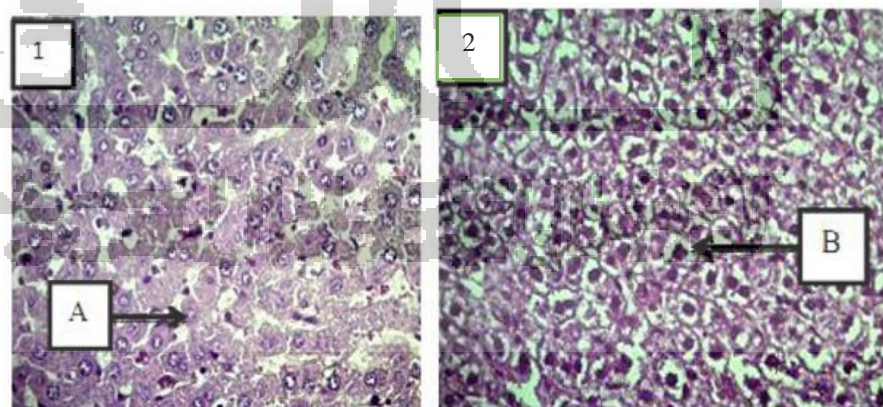
Metode OECD (*Organization for Economic Cooperation and Development*) 425 adalah metode terbaru dan telah digunakan oleh BPOM dalam pengujian ketoksikan akut. Metode ini merupakan salah satu pedoman uji toksisitas terhadap bahan kimia dengan menggunakan prosedur naik-turun (UDP) untuk

memperkirakan nilai  $LD_{50}$ . Pedoman ini bermanfaat dalam meminimalkan penggunaan jumlah hewan uji dengan estimasi nilai  $LD_{50}$  dan interval kepercayaan, serta memungkinkan pengamatan tanda ketoksikan. Pada metode OECD 425, terdapat 2 tes yang perlu dilakukan dalam uji ketoksikan akut yaitu *limit test* dan *main test*. *Limit test* adalah tes berurutan yang menggunakan maksimal 5 hewan dengan dosis uji 2000 mg/kgBB atau maksimal 5000 mg/kgBB. Sedangkan *main test* adalah pengujian lanjutan jika hewan uji mengalami kematian pada *limit test*, dosis tunggal dinaikkan atau diturunkan lalu pemberian pada hewan uji diurutkan untuk diberikan dosis satu per satu pada interval minimum 48 jam (OECD, 2008).

Pengujian akan berhenti jika salah satu kriteria terpenuhi, yaitu: (a) 3 hewan uji berturut-turut hidup pada batas atas (5000 mg/kgBB); (b) sejumlah 5 pengulangan terjadi pada pengujian 6 hewan uji. Dimulai dari dosis terendah saat ditemukan hewan uji yang hidup lalu dilakukan pengujian pada konsentrasi diatas dosis terendah, dengan pengujian sebanyak 2x pada 2 pengujian tersebut; (c) penghentian dilakukan ketika terdapat 3 hewan uji mengalami kematian pada 4 konsentrasi yang sama (OECD, 2008).

## 2.1.2 Organ Sasaran Pengujian Ketoksikan

### 2.1.2.1 Organ Hati



**Gambar 2.1** Gambaran Histopatologis Hati

Keterangan: Hati Normal (1); Hati Tidak Normal (2); Hepatosit (A); Degenerasi Hidroponik (B)  
(Nurqolbiah *et al.*, 2000)

Hati merupakan organ untuk reaksi metabolisme. Seluruh zat yang masuk melalui gastrointestinal akan diserap menuju pembuluh darah. Zat yang bersifat lebih toksik akan dibawa ke hati melalui vena portal hati untuk di metabolisme menjadi zat yang kurang toksik oleh banyak enzim pemetabolisme, salah satunya adalah sitokrom P<sub>450</sub> (Burcham, 2014).

Ketika hati rusak atau berbagai mekanisme yang dapat merusak hati, maka akan semakin sulit untuk memetabolisme suatu zat. Zat toksik dapat mempengaruhi sel-sel hati hingga mengakibatkan berbagai jenis kerusakan hati (Burcham, 2014). Pada pemeriksaan histologi, toksisitas dapat ditandai dengan terjadinya degenerasi sel secara bersama-sama dengan pembentukan vakuola besar, penimbunan lemak, dan nekrosis (Wirasuta *and* Niruri, 2006). Gangguan pada hati dapat bersifat *reversible* dan *irreversible* (Chandrasoma *and* Taylor, 2005). Contoh kerusakan hati yang bersifat *reversible* adalah pembengkakan sel dan perlemakan hati.

a. Pembengkakan Sel

Pembengkakan sel merupakan akibat dari masuknya air ekstraseluler ke dalam sel, yang dikarenakan adanya gangguan pengaturan ion dan volume karena kehilangan ATP (Chandrasoma *and* Taylor, 2005). Apabila air tertimbun di dalam sel, maka hepatosit mengalami pembengkakan dan akan membentuk vakuola-vakuola kecil jernih pada sitoplasma. Hal tersebut karena adanya pelebaran retikulum endoplasma dan menonjol keluar atau segmennya pecah (Robbins *et al*, 2007).

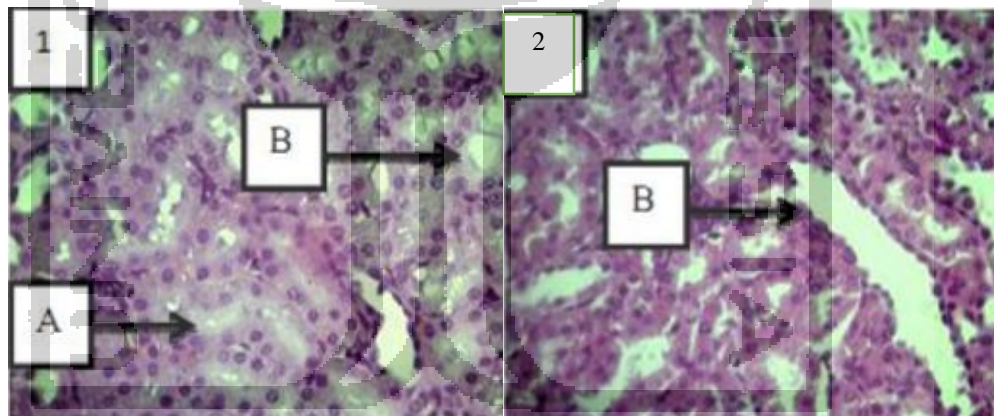
b. Perlemakan Hati

Perlemakan hati merupakan akumulasi trigliserida dalam sel-sel parenkim hati. Akumulasi trigliserida salah satunya dikarenakan peningkatan mobilisasi lemak di jaringan yang menyebabkan peningkatan jumlah asam lemak di hati, lalu kecepatan konversi asam lemak menjadi trigliserida di dalam hati karena aktivitas enzim yang terlibat meningkat (Chandrasoma *and* Taylor, 2005).

Sedangkan kerusakan hati yang bersifat *irreversible* adalah nekrosis, fibrosis dan sirosis. Kerusakan yang terjadi pada hati ini bersifat terus-menerus dan tidak dapat kembali seperti keadaan semula.

- a. Nekrosis merupakan kematian sel yang terjadi secara acak pada satu atau sekelompok kecil sel pada seluruh daerah lobulus-lobulus hati (Chandrasoma *and* Taylor, 2005).
- b. Fibrosis merupakan akumulasi matriks ekstraseluler yang dikarenakan respon dari cedera akut atau kronik pada hati. Ketika proses penyembuhan pada hepatosit akan menyebabkan pelepasan sitokin dan faktor solubel lainnya, kemudian akan mengaktifasi sel stelat yang mensintesis matriks ekstraseluler dalam jumlah besar (Robbins *et al*, 2007)
- c. Sirosis merupakan lanjutan dari proses fibrosis. Cedera pada parenkim menyebabkan hati terbagi menjadi nodus hepatosit, kemudian mengalami regenerasi dan dikelilingi oleh jaringan parut yang disebut sirosis (Robbins *et al*, 2007).

#### 2.1.2.2 Organ Ginjal



**Gambar 2.2** Gambaran Histopatologis Ginjal

Keterangan: Ginjal Normal (1); Ginjal Tidak Normal (2); Sel Tubulus Proksimal (A); Hilangnya Brush Border (B) (Nurqolbiah *et al*, 2000)

Ginjal merupakan organ untuk reaksi ekskresi dan menjadi sasaran utama efek toksik dikarenakan seluruh senyawa yang masuk ke dalam tubuh sebagian besar diekskresi melalui ginjal (Burcham, 2014). Proses ekskresi ginjal meliputi filtrasi glumerula, sekresi aktif tubular, dan resorpsi pasif tubular. Pada filtrasi glumerula memerlukan ukuran dan berat lebih kecil. Pada resorpsi pasif tubular ditentukan oleh gradien konsentrasi *xenobiotika* antara urin dan plasma di dalam pembuluh tubuli. Sedangkan pada sekresi aktif tubular melibatkan proses transpor

aktif. Pada pemeriksaan histologi, toksisitas dapat ditandai dengan terjadinya degenerasi sel secara bersama-sama dengan pembentukan vakuola besar, penimbunan lemak, dan nekrosis (Wirasuta *and* Niruri, 2006).

Seluruh proses metabolisme di dalam tubuh akan berakhir pada proses ekskresi di ginjal, zat-zat hasil metabolisme akan mengalami filtrasi di glomerulus dan reabsorpsi di tubulus proksimal, *ansa henle* dan tubulus distal yang kemudian berlanjut ke tubulus *collectivus* untuk dikeluarkan sebagai urin. Tubulus proksimal merupakan bagian dari ginjal yang paling banyak dan paling mudah mengalami kerusakan pada kasus nefrotoksis (Suhita *et al.*, 2013).

### 2.1.3 Produk SOLUDIA®

Produk SOLUDIA® merupakan obat herbal yang diproduksi oleh CV. Al Manar HerbaFit, Kabupaten Bantul, Daerah Istimewa Yogyakarta. Produk ini memiliki komposisi yang terdiri dari ekstrak daun yakon, daun sambiloto dan herba meniran dengan dosis penggunaan 500 mg tiga kali sehari. Kemasannya berupa botol yang berisi 40 kapsul. Obat herbal ini diklaim mampu memperbaiki sel  $\beta$  pankreas dan menurunkan kadar glukosa darah dengan pemasaran yang telah dilakukan baik secara offline maupun online. Selain itu, banyak dari masyarakat yang telah mengkonsumsi dan memberikan testimoni bahwa produk ini dapat menyembuhkan penyakitnya. SOLUDIA® telah memiliki ijin BPOM dengan nomor POM TR 173399351 serta sertifikasi halal MUI dengan nomor 12270000420116 (BPOM RI, 2017).



**Gambar 2.3** Produk SOLUDIA®  
(dokumentasi pribadi)

### 2.1.3.1 Yakon (*Smallanthus sonchifolius*)

#### a. Deskripsi

Yakon (*Smallanthus sonchifolius*) merupakan tanaman herba asli wilayah Andes di Amerika Selatan. Tanaman ini memiliki sistem percabangan yang terdiri dari batang dengan tinggi sekitar 2 hingga 2,5 m. Daun yakon termasuk suku *Asteraceae* (Caetano *et al.*, 2016).

#### b. Kandungan

Daun yakon (*Smallanthus sonchifolius*) mengandung senyawa fenol alami seperti *caffeic acids*, dan *3,5-dicaffeoylquinic*, polifenol, fenolik dan terpenoid (Nugraha *et al.*, 2017). Penelitian lain menyebutkan daun yakon memiliki kandungan *fructooligosacarida*, *smallanthaditerpenic acid*, *octadecatrienoic*, *flavonoid*, dan senyawa *melampolide*, suatu *sesquiterpen* laktone (Pahlawan and Oktaria, 2016) (Sujono *et al.*, 2014).



**Gambar 2.4** Tanaman Yakon (*Smallanthus sonchifolius*)  
(Suhirman, 2015)

#### c. Khasiat

Daun yakon (*Smallanthus sonchifolius*) memiliki efektifitas perbaikan sel  $\beta$  pankreas serta penurunan kadar glukosa darah secara signifikan dengan dosis optimal pemberian ekstrak etanol daun yakon dosis 80 mg/200gBB dan 120 mg/200gBB. Mekanisme perbaikannya yaitu dengan menghambat pembentukan *nitric oxide* (NO) yang dapat merusak sel  $\beta$  pankreas (Sujono *et al.*, 2014). Penelitian toksisitas akut daun yakon dengan dosis tunggal 10% rebusan atau *enhydrin* pada setiap tingkat dosis hingga dosis tertinggi yang diuji (masing-

masing 14 g/kg dan 0,32 g/kg), yang hasilnya tidak ada kematian atau tanda-tanda toksisitas (Serra *et al.*, 2012).

#### 2.1.3.2 Sambiloto (*Andrographis paniculata* [Burm.f.] Nees)

##### a. Deskripsi

Daun sambiloto (*Andrographis paniculata* [Burm.f.] Nees) termasuk ke dalam suku *Lamiaceae*. Kandungan yang terdapat pada daun sambiloto yaitu *andrografolid* sebagai senyawa identitas tidak kurang dari 0,64% (KEMENKES RI, 2009).



**Gambar 2.5** Tanaman Sambiloto (*Andrographis paniculata*) (KEMENKES RI, 2016)

##### b. Kandungan

Daun sambiloto (*Andrographis paniculata* [Burm.f.] Nees) diketahui memiliki kandungan *lakton* dan *flavonoid* (Putri, 2009). Selain itu, daun sambiloto mengandung senyawa *deoksiandrografolid*, *andrografolid*, *neoandrografolid*, *12-didehidroandrografolid*, dan *homoandrografolid* (Pradini *et al.*, 2017).

##### c. Khasiat

Penelitian sebelumnya menyebutkan bahwa pada dosis 4,4 mg/kgBB ekstrak etanol daun sambiloto (*Andrographis paniculata* [Burm.f.] Nees) merupakan dosis terapi yang efektif untuk memperbaiki struktur dan jumlah sel pada pulau langerhans mencit yang diinduksi aloksan. Senyawa antioksidan yang dimiliki dapat terlibat dalam proses perbaikan sel yang rusak. Kerusakan sel yang disebabkan oleh adanya radikal bebas seperti ROS atau RNS mampu



diatasi karena berfungsi sebagai agen yang menurunkan oksidator sebelum merusak sel (Putri, 2009). Hasil penelitian toksisitas herba sambiloto secara akut hingga dosis 2000 mg/kgBB tidak menunjukkan adanya kematian maupun gejala toksik pada hewan uji (Muiz, 2017). Penelitian lain menyebutkan hal yang serupa dengan tidak berubahnya histopatologis pada hati dan ginjal tikus (Najiha, 2016).

#### 2.1.3.3 Meniran (*Phyllanthus niruri* L.)

##### a. Deskripsi

Herba meniran (*Phyllanthus niruri* L.) termasuk kedalam suku *Euphorbiaceae*, mengandung *flavonoid* total tidak kurang dari 0,90% dihitung sebagai kuersetin. Herba meniran memiliki senyawa identitas yaitu *filantin* (KEMENKES RI, 2009). Herba meniran merupakan terna yang tumbuh tegak dengan tinggi sekitar 50 cm – 1 m, memiliki cabang yang berpenjar dengan daun tunggal berwarna hijau pucat atau hijau kemerahan. Daun berbentuk bulat telur hingga memanjang dengan panjang daun sekitar 5 mm – 100 mm, lebar 2,5 mm – 5 mm. (KEMENKES RI, 2016).



**Gambar 2.6** Tanaman Meniran (*Phyllanthus niruri* L.)  
(KEMENKES RI, 2016)

##### b. Kandungan

Meniran (*Phyllanthus niruri* L.) diketahui memiliki kandungan senyawa flavonoid glikosida dan senyawa polifenol yaitu ellagitanin jenis asam ellagat (Fahri *et al.*, 2005). Penelitian lain menyebutkan bahwa daun meniran

mengandung senyawa flavonoid kuersetin (Wahjuni, 2017). Selain itu, Meniran memiliki kandungan senyawa berupa alkaloid dan tanin (Khairunnisa, 2012).

#### c. Khasiat

Berdasarkan penelitian sebelumnya, disebutkan bahwa pemberian ekstrak daun meniran (*Phyllanthus niruri* L.) sebanyak 5,0 mg/kgBB/hari mampu dapat menurunkan kadar glukosa darah. Adapun mekanisme penurunan kadar glukosa darah oleh meniran yaitu dengan meningkatkan sekresi sel  $\beta$  pankreas dengan mempertahankan fungsi serta memperbaiki kerja pankreas (Wahjuni, 2017). Sebuah penelitian menyebutkan bahwa penggunaan meniran sampai dosis 2000 mg/kgBB tidak menimbulkan kematian (Mario, 2003). Adapun penelitian lain menyebutkan bahwa meniran menyebabkan perubahan mikroskopis pada ginjal (Alboneh, 2010).

#### 2.1.4 Tikus Wistar Betina

Tikus galur Wistar merupakan salah satu hewan uji yang digunakan dalam penelitian yang berkaitan dengan suatu bahan atau produk obat dan suatu penyakit.. Hewan tersebut harus sesuai persyaratan yaitu sehat, diketahui jenis dan galur, jenis kelamin, usia serta berat badan menjadi pertimbangan sehingga harus diketahui kejelasannya (BPOM RI, 2014). Selain itu, tikus harus memiliki kemampuan dalam memberikan reaksi imunitas yang baik, memiliki kepekaan terhadap suatu penyakit, serta pemeliharaannya terstandar dengan baik (Tolistiawaty *et al.*, 2014). Adapun penggunaan tikus galur Wistar sebagai hewan uji karena mudah didapatkan dalam jumlah banyak, memiliki respon yang cepat, memberikan gambaran kemungkinan yang terjadi pada manusia secara ilmiah (Sihombing *and* Raflizar, 2010). Menurut OECD 425, penggunaan tikus Wistar betina lebih sensitif dari pada tikus Wistar jantan (OECD, 2008).

Pemeliharaan atau perlakuan yang baik terhadap hewan uji harus sesuai prosedur yang telah ditetapkan. Berdasarkan peraturan BPOM, hewan uji berupa tikus diberi makan berupa pakan dan minum *ad libitum*. Pengandangan dilakukan pada wadah plastik berukuran 50x40x10cm yang ditutup kawat di atasnya dan beralaskan sekam yang diganti setiap 3 hari sekali. Kandang hewan uji tersebut

berada pada ruangan yang bebas dari kebisingan, kebersihan terjaga dengan kelembaban ( $\pm 50\%$ ), suhu  $25^{\circ}\text{C}$ , ventilasi cukup dan dengan cahaya gelap terang selama 12 jam sehari (BPOM RI, 2014).



**Gambar 2.7** Tikus Galur Wistar  
(Fauziyah, 2016)

## 2.2 Landasan Teori

Produk SOLUDIA<sup>®</sup> merupakan obat herbal yang di klaim mampu menurunkan kadar glukosa darah. Komposisi produk SOLUDIA<sup>®</sup> terdiri dari kombinasi ekstrak daun yakon (*Smallanthus sonchifolius*), daun sambiloto (*Andrographis paniculata* [Burm.f.] Nees) dan herba meniran (*Phyllanthus niruri* L.). Bahan produk SOLUDIA<sup>®</sup> yang pertama adalah daun yakon (*Smallanthus sonchifolius*) dengan hasil penelitian toksisitas akut bahwa dosis tunggal 10% rebusan atau *enhydrin* pada setiap tingkat dosis hingga dosis tertinggi yang diuji (masing-masing 14 g/kg dan 0,32 g/kg) menghasilkan tidak adanya kematian (Serra *et al.*, 2012). Kemudian, bahan herbal yang kedua adalah daun sambiloto (*Andrographis paniculata* [Burm.f.] Nees) dengan hasil pengujian toksisitas akut hingga dosis 2000 mg/kgBB tidak terdapat kematian maupun gejala ketoksikan (Muiz, 2017). Yang terakhir, bahan herbal berupa daun meniran (*Phyllanthus niruri* L.) dengan dosis 2000 mg/kgBB tidak menimbulkan kematian (Mario, 2003).

## 2.3 Hipotesis

Kombinasi ketiga bahan herbal produk SOLUDIA<sup>®</sup> tidak menimbulkan toksisitas berdasarkan gejala ketoksikan dan histopatologis hati dan ginjal tikus.