

BAB I

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang Permasalahan

Masyarakat Indonesia telah lama mengenal dan menggunakan tanaman berkhasiat obat sebagai salah satu upaya dalam menanggulangi masalah kesehatan. Pengetahuan tentang tanaman berkhasiat obat berdasar pada pengalaman dan keterampilan yang secara turun-temurun telah diwariskan dari satu generasi ke generasi berikutnya (Sari, 2006). Salah satu tanaman yang berkhasiat obat yaitu sirih merah (*Piper crocatum*), salah satu dari 59 anggota famili *Piperaceae*, yang daunnya berwarna hijau gelap dan bermotif keperakan. Di antara anggota famili *Piperaceae* yang lain, sirih merah menonjol karena selain bersosok indah juga bermanfaat sebagai tanaman obat (Duryatmo, 2005). Pada tahun 1990-an sirih merah difungsikan sebagai tanaman hias oleh para hobis karena penampilannya yang menarik (Manoi, 2007).

Tanaman sirih merah telah lama dimanfaatkan oleh masyarakat sebagai obat berdasarkan pengalaman secara turun-temurun dari orang tua kepada anak atau saudara dekat secara lisan. Sirih merah sebagai tanaman obat kini muncul dan menambah khasanah pengobatan herbal. Sirih merah yang mulai menjadi fenomena, menjadi primadona di setiap pameran, selain cantik dipandang mata sebagai tanaman hias yang eksotis, juga bermanfaat sebagai tanaman obat yang secara empiris dapat mengatasi berbagai penyakit, seperti diabetes mellitus, asam urat, tuberkulosis, hiperplasia prostat, bahkan kanker dan masih banyak penyakit lain yang dapat disembuhkan (Sudewo, 2010).

Khasiat sirih merah tersebut karena adanya sejumlah senyawa aktif yang dikandungnya, antara lain flavonoid, alkaloid, senyawa polifenolat, tanin, dan minyak atsiri (Sudewo, 2010). Salah satu senyawa aktif dalam beberapa tanaman yang terbukti manfaatnya adalah minyak atsiri. Minyak atsiri sendiri merupakan senyawa yang pada umumnya berujud cairan, yang diperoleh dari bagian tanaman, akar, kulit,

batang, daun, buah, biji, maupun dari bunga dengan cara penyulingan. Minyak atsiri juga dikenal dengan nama minyak mudah menguap atau minyak terbang (Agusta, 2000). Manfaat minyak atsiri sirih merah telah diteliti oleh Rachmawaty (2009) sebagai antituberkulosis. Uji kemampuan minyak atsiri daun sirih merah sebagai antibakteri juga telah dibuktikan dalam penelitian Trianto (2010) dan Aprilia (2010).

Penggunaan obat tradisional secara umum dinilai lebih aman daripada penggunaan obat modern. Hal ini disebabkan karena obat tradisional memiliki efek samping yang relatif lebih sedikit daripada obat modern (Sari, 2006). Disamping berbagai kelebihan, tidak dapat dipungkiri lagi bahwa tanaman obat dan obat tradisional juga memiliki beberapa kelemahan yang menjadi kendala dalam pengembangan obat tradisional, termasuk dalam upaya agar dapat diterima dalam pelayanan kesehatan formal (Katno, 2008). Anggapan bila obat tradisional aman dikonsumsi walaupun gejala sakit sudah hilang adalah keliru. Sampai batas-batas tertentu, mungkin benar. Akan tetapi, bila sudah melampaui batas justru akan membahayakan. Jika bahan, ketepatan dosis, waktu penggunaan, cara penggunaan, telaah informasi kurang tepat dan disalahgunakan, maka efek samping yang timbul tidak kecil lagi (Sari, 2006).

Untuk mengatasi hal tersebut perlu upaya pengembangan agar didapatkan bentuk obat tradisional yang telah teruji khasiat dan keamanannya, bisa dipertanggungjawabkan secara ilmiah serta memenuhi indikasi medis. Upaya tersebut perlu melalui beberapa tahap yaitu uji farmakologi, toksisitas, dan uji klinik hingga dapat menjawab dan mengatasi berbagai kelemahan obat tradisional (Katno, 2008).

Maka untuk mengetahui keamanan sirih merah jika digunakan sebagai pengobatan, perlu dilakukan uji toksisitas. Uji toksisitas dibedakan menjadi uji toksisitas akut, subakut, dan kronis. Uji toksisitas akut dirancang untuk menentukan efek toksik suatu bahan yang akan terjadi dalam waktu singkat setelah pemberian bahan tersebut dengan takaran tertentu (Priyanto, 2007). Uji ini dimaksudkan untuk mendapatkan informasi tentang gejala keracunan, penyebab kematian, urutan proses

kematian, dan rentang dosis yang mematikan hewan uji (*lethal dose* atau disingkat LD) suatu bahan (Ngatidjan, 2006).

Penelitian mengenai keamanan daun sirih merah sudah pernah diteliti oleh Safithri dan Fahma (2005) yang meneliti toksisitas ekstrak air daun sirih merah (*Piper crocatum*) yang terbukti praktis tidak toksik untuk digunakan. Rachmawati dkk. (2010) juga membuktikan bahwa ekstrak etanol sirih merah aman digunakan karena memiliki nilai LD₅₀ lebih dari 18 g/kgBB. Akan tetapi, sejauh yang peneliti ketahui, kajian keamanan minyak atsiri sirih merah belum ada, sehingga untuk mengetahui keamanannya perlu dilakukan penelitian untuk mengkaji toksisitas akut minyak atsiri sirih merah.

Uji toksisitas minyak atsiri sirih merah yang akan dilakukan bertujuan untuk mengkaji keamanan minyak atsiri sirih merah pada model binatang coba yaitu mencit galur DDY (*Deutsch Democratic Yokohama*). Parameter yang digunakan adalah nilai LD₅₀ dan gejala toksik yang muncul terhadap hewan uji. Sehingga dengan penelitian ini diharapkan dapat memberikan gambaran mengenai keamanan minyak atsiri sirih merah bila digunakan sebagai senyawa tunggal dalam pengobatan.

1.2. Perumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang penelitian maka didapatkan rumusan sebagai berikut.

- 1) Semakin meningkatnya penggunaan obat herbal di masyarakat saat ini.
- 2) Sirih merah adalah salah satu obat herbal yang telah banyak digunakan dan secara empiris dapat mengatasi berbagai penyakit.
- 3) Penelitian mengenai manfaat minyak atsiri sirih merah (*Piper crocatum*) sudah dilakukan tetapi penelitian mengenai keamanannya belum dilakukan.

Sehingga berdasarkan rumusan tersebut, masalah yang diangkat dalam penelitian ini adalah sebagai berikut.

- 1) Apakah minyak atsiri sirih merah (*Piper crocatum*) aman untuk dikonsumsi oleh manusia ?
- 2) Berapa besar potensi ketoksikan akut yang dinyatakan dengan nilai LD₅₀ minyak atsiri sirih merah (*Piper crocatum*) ?
- 3) Gejala toksik apa sajakah yang mungkin timbul pada hewan uji akibat pemberian minyak atsiri sirih merah (*Piper crocatum*) ?

1.3. Tujuan Penelitian

Uji toksisitas akut minyak sirih merah (*Piper crocatum*) yang akan dilakukan memiliki tujuan sebagai berikut.

- 1) Untuk mengkaji keamanan penggunaan minyak atsiri sirih merah (*Piper crocatum*) apabila dikonsumsi oleh manusia.
- 2) Untuk menentukan potensi ketoksikan akut yang dinyatakan dengan nilai LD₅₀.
- 3) Untuk mengamati gejala toksik yang timbul pada hewan uji akibat pemberian minyak atsiri sirih merah (*Piper crocatum*).

1.4. Keaslian Penelitian

Sejauh yang peneliti ketahui, penelitian mengenai sirih merah yang sudah dilakukan di antaranya adalah sebagai berikut. Trianto dkk. (2010) telah melakukan penelitian Uji Kemampuan Minyak Atsiri Daun Sirih Merah (*Piper crocatum*) sebagai Antibakteri Terhadap *E.coli* ATCC 35218 secara *In Vitro*. Hasil Penelitian tersebut adalah minyak atsiri sirih merah memiliki kemampuan antibakteri terhadap *E.coli*.

Aprilia dkk. (2010) juga meneliti Uji Kemampuan Antibakteri Minyak Atsiri Daun Sirih Merah (*Piper crocatum*) terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 *In Vitro*. Dari penelitian tersebut didapatkan bahwa minyak atsiri sirih merah juga memiliki kemampuan sebagai antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus*.

Penelitian yang dilakukan Rachmawaty (2009) mengenai Minyak Atsiri Sirih Merah (*Piper crocatum*) sebagai Antituberkulosis, telah dapat dibuktikan bahwa minyak atsiri sirih merah (*Piper crocatum*) memiliki efek antituberkulosis dengan tingkat terkecil yang dapat membunuh *M. tuberculosis* antara 0,625-1,25%.

Uji toksisitas ekstrak air daun sirih merah (*Piper crocatum*) yang dilakukan oleh Safithri dan Fahma (2005) membuktikan bahwa ekstrak air daun sirih merah (*Piper crocatum*) tidak toksik digunakan. Rachmawaty dkk. (2010) membuktikan bahwa ekstrak etanol daun sirih merah (*Piper crocatum*) tidak membahayakan sama sekali karena mempunyai nilai LD₅₀ lebih dari 18 g/kgBB.

1.5. Manfaat Penelitian

Uji toksisitas akut minyak atsiri sirih merah diharapkan dapat memberikan manfaat yang besar, antara lain sebagai berikut.

- 1) Sebagai bahan informasi dan pengetahuan mengenai keamanan minyak atsiri sirih merah (*Piper crocatum*) apabila dikonsumsi manusia.
- 2) Sebagai pedoman untuk memperkirakan risiko penggunaan minyak atsiri sirih merah (*Piper crocatum*) pada manusia.
- 3) Sebagai dasar untuk melakukan penelitian lebih lanjut sehingga didapatkan obat yang dapat dipertanggungjawabkan secara ilmiah dan memenuhi indikasi medis.
- 4) Sebagai sumbangsih khasanah ilmu pengetahuan.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Toksisitas

2.1.1. Toksikologi

Toksikologi adalah ilmu yang mempelajari racun (*toxicon*: racun, *logos*: ilmu). Racun yaitu substansi (kimia atau fisik) yang dapat menimbulkan cedera atau kerusakan pada sistem biologik sehingga menimbulkan gangguan fungsi sistem itu yang bermanifestasi sebagai gangguan kesehatan. Toksikologi merupakan ilmu yang disusun dari berbagai disiplin ilmu antara lain Kimia, Biologi, Fisika, Biokimia, Fisiologi, Farmakologi, Patologi, dan Kesehatan Masyarakat (Ngatidjan, 2006). Toksikologi didefinisikan secara ringkas sebagai kajian tentang hakikat dan mekanisme efek toksik berbagai bahan terhadap makhluk hidup dan sistem biologik lainnya, serta membahas penilaian kuantitatif tentang berat dan kekerapan efek toksik tersebut terhadap makhluk hidup yang terpajan (Lu, 1995).

2.1.2. Uji Toksisitas

Penelitian toksikologi direncanakan dan dilaksanakan berdasarkan pada teori bahwa efek zat pada jaringan merupakan akibat dari interaksi antara zat dengan sistem biologik sehingga timbul gangguan sistem biologik baik pada struktur (morfologi) maupun pada fungsinya (Ngatidjan, 2006). Penelitian toksisitas konvensional pada hewan coba merupakan sumber data utama bagi evaluasi toksikologi karena dapat mengungkapkan serangkaian efek akibat pajanan toksikan dalam berbagai dosis untuk berbagai masa pajanan. Selain itu, penelitian toksikologi juga berguna untuk menunjukkan organ sasaran (misalnya hati), sistem (misalnya sistem kardiovaskuler), atau toksisitas khusus (misalnya karsinogenesis) yang membutuhkan penelitian lebih lanjut (Lu, 1995).

Penelitian toksikologi dibagi menjadi tiga kategori, yaitu uji toksisitas akut, uji toksisitas jangka pendek (penelitian subakut atau subkronik), dan uji toksisitas jangka panjang. Uji toksisitas akut dilakukan dengan cara memberikan dosis tunggal

zat kimia yang sedang diuji dan pengamatannya dilakukan selama 24 jam, kecuali pada kasus tertentu selama 7-14 hari (Priyanto, 2008).

Uji toksisitas jangka pendek dilakukan dengan memberikan bahan tersebut berulang-ulang, biasanya setiap hari atau lima kali seminggu, selama jangka waktu kurang lebih tiga bulan untuk tikus dan satu atau dua tahun untuk anjing. Akan tetapi beberapa peneliti menggunakan jangka waktu yang lebih pendek, yaitu 14 atau 28 hari. Uji toksisitas jangka panjang dilakukan dengan memberikan zat kimia berulang-ulang selama masa hidup hewan coba atau sekurang-kurangnya sebagian besar dari masa hidupnya, misalnya 18 bulan untuk mencit, 24 bulan untuk tikus, dan 7-10 tahun untuk anjing dan monyet (Lu, 1995).

2.1.3. Uji Toksisitas Akut

Kemampuan racun untuk menimbulkan cedera pada sistem biologik disebut toksisitas. Toksisitas akut terjadi jika gejala keracunan timbul dalam waktu kurang dari 24 jam sesudah masuknya zat beracun ke dalam tubuh, baik sebagai dosis tunggal ataupun berulang (Ngatidjan, 2006). Sebagian besar penelitian toksisitas akut dirancang untuk menentukan dosis letal median (LD_{50}) toksikan. LD_{50} adalah dosis tunggal suatu zat yang secara statistik diharapkan akan membunuh lima puluh persen hewan coba. Pengujian ini juga dapat menunjukkan organ sasaran yang mungkin dirusak dan efek toksik spesifiknya, serta memberikan petunjuk tentang dosis yang sebaiknya digunakan dalam pengujian yang lebih lama (Lu, 1995).

Secara umum, dalam penentuan LD_{50} digunakan tikus atau mencit karena murah, mudah didapat, dan mudah ditangani. Sebaiknya penentuan LD_{50} dilakukan pada kedua jenis kelamin, juga pada hewan dewasa dan yang masih muda, karena kerentanannya mungkin berbeda (Lu, 1995). Hewan yang digunakan sebelumnya di aklimatisasi dan observasi minimal 1 minggu. Hewan yang dipilih harus homogen dan sensitif terhadap zat uji. Jumlah hewan yang digunakan 40-60 terbagi dalam 3 atau 4 kelompok (Priyanto, 2007).

Untuk menentukan LD_{50} secara tepat, perlu dipilih suatu dosis yang akan membunuh sekitar separuh jumlah hewan-hewan itu, dosis kedua yang akan

membunuh lebih dari separuh (kalau bisa $< 90\%$), dan dosis ketiga yang akan membunuh kurang dari separuh (kalau bisa $> 10\%$ dari hewan coba. Sering digunakan empat dosis atau lebih agar sekurang-kurangnya tiga di antaranya berada dalam rentang dosis yang dikehendaki (Lu, 1995). Jika bahan uji sangat lemah daya racunnya sehingga tidak berakibat kematian hewan uji pada semua peringkat dosis, maka dosis tertinggi yang secara teknis dapat diberikan dianggap sebagai LD₅₀ di dalam perhitungan dosis untuk penelitian selanjutnya (Ngatidjan, 1991).

Toksikan harus diberikan melalui jalur yang biasa digunakan pada manusia. Jalur oral yang paling sering digunakan. Umumnya zat uji diberikan melalui sonde. Jalur dermal dan inhalasi juga sering digunakan, bukan hanya untuk zat yang digunakan melalui jalur tersebut, tetapi juga untuk menilai bahayanya bagi kesehatan orang yang selalu berhubungan dengan zat tersebut (Priyanto, 2007).

2.1.4. Manifestasi Efek Toksik

Interaksi antara suatu zat (baik kimiawi ataupun fisik) dengan tubuh dapat berakibat timbulnya efek yang diharapkan (efek terapi) atau efek yang tidak diharapkan (efek samping atau reaksi hipersensitif atau efek toksik). Wujud efek toksik berupa perubahan atau gangguan biokimiawi, fungsional, atau struktural suatu sel. Perubahan kimiawi sel seperti peningkatan atau pengurangan aktivitas transport elektron, sintesis protein, gangguan sistem hormonal, dan lain sebagainya. Perubahan ini pada awalnya akan diminimalisasi oleh pertahanan tubuh dan jika dapat pulih atau adaptasi maka sel tidak akan mengalami cedera. Perubahan fungsional berasal dari interaksi antara zat toksik dengan reseptor yang dapat menyebabkan terganggunya fungsi organ misalnya anoksia, gangguan pernapasan, gangguan sistem saraf pusat, hipotensi dan hipertensi, dan hiper atau hipoglikemi. Perubahan fungsional atau biokimiawi sering merupakan tahap awal dari terjadinya perubahan struktural. Contoh-contoh perubahan struktural adalah degenerasi, proliferasi, dan inflamasi. Ketiga efek tersebut menggambarkan perjalanan akhir dari serangkaian peristiwa seluler yang dapat dilihat di bawah mikroskop cahaya atau elektron (Priyanto, 2007).

Biasanya efek toksik muncul pada dosis yang lebih besar dari dosis terapi. Meskipun demikian, efek toksik juga dapat muncul pada dosis terapi jika terdapat abnormalitas pada individu (seperti pada kekurangan enzim yang penting dalam metabolisme suatu zat). Efek toksik normal adalah efek toksik yang diakibatkan oleh aksi normal suatu zat, umumnya dapat diperkirakan, banyak terjadi, dan tergantung pada dosis. Efek demikian, yang timbul pada suatu jenis hewan uji akan timbul juga pada jenis lainnya jika antara kedua hewan uji itu ada kesamaan ciri biologik. Intensitas efek toksik ini tergantung pada kadar di dalam sel, organ atau jaringan sasaran. Efek toksik normal merupakan suatu keadaan *overdosis*. Sedangkan efek toksik tidak normal merupakan efek toksik yang tidak umum terjadi, merupakan akibat dari ketidaknormalan individu. Efek toksik normal dapat dibagi menjadi efek toksik tidak khas dan efek toksik khas (Ngatidjan, 2006).

2.1.5. Pengamatan dan Pemeriksaan Tanda Toksisitas

Dalam uji ketoksikan akut, penentuan LD₅₀ dilakukan dengan cara menghitung jumlah kematian hewan uji yang terjadi dalam 24 jam pertama sesudah pemberian dosis tunggal bahan uji. Akan tetapi, kematian juga dapat terjadi sesudah 24 jam pertama karena proses keracunan dapat berjalan lambat. Gejala keracunan yang muncul sesudah 24 jam menunjukkan bahwa bahan uji memiliki titik tangkap kerja pada tingkat yang lebih bawah sehingga gejala keracunan dan kematian seolah-olah tertunda (*delayed toxicity*). Oleh karena itu pengamatan gejala keracunan perlu dilakukan sampai 7 hari (Ngatidjan, 1991). Jumlah hewan yang mati dan waktu kematiannya harus diamati untuk memperkirakan LD₅₀ dan yang lebih penting lagi adalah untuk mencatat tanda-tanda toksisitasnya (Lu, 1995). Kemudian hewan uji yang mati dilakukan autopsi untuk diperiksa organ penting baik secara makroskopik maupun mikroskopik (Ngatidjan, 1991). Autopsi dapat memberikan informasi penting tentang organ sasaran, terutama bila kematian tidak terjadi segera setelah pemberian bahan uji (Lu, 1995). Untuk fiksasi jaringan atau organ digunakan larutan fiksasi yang sesuai seperti formalin 4% (Ngatidjan, 1991).

Berikut ini Tabel yang mencantumkan daftar organ dan sistem yang mungkin dipengaruhi beserta tanda-tanda khusus toksisitasnya (Lu, 1995).

Tabel 1. Gejala toksisitas akut pada organ atau sistem (Lu, 1995)

Sistem	Tanda Toksik
Autonom	Membran niktitan melemas, eksoftalmus, hipersekresi hidung, salivasi, diare, keluar air seni, piloereksi
Perilaku	Sedasi, gelisah, posisi duduk kepala ke atas, pandangan lurus ke depan, kepala tertunduk, depresi berat, sering menjilat-jilat tubuh, kuku siap mencakar, terengah-engah, iritabilitas, sikap agresif atau defensif, ketakutan, bingung, aktivitas yang aneh
Sensorik	Peka terhadap nyeri, <i>righting reflex</i> , refleks kornea, refleks labirin, refleks penempatan, refleks tungkai belakang, peka terhadap bunyi dan sentuhan, nistagmus, fonasi
Neuromuskuler	Aktivitas meningkat atau berkurang, fasikulasi, tremor, konvulsi, ataksia, lemas, ekor melengkung ke atas membentuk huruf S (tanda <i>Straub</i>), kelemahan tungkai belakang, refleks nyeri dan refleks tungkai belakang (hilang atau berkurang), opistotonus, tonus otot, kematian
Kardiovaskuler	Denyut jantung meningkat atau berkurang, sianosis, vasokonstriksi, vasodilatasi, perdarahan
Pernafasan	Hipopnea, dispnea, terengah-engah, apnea
Mata	Midriasis, miosis, lakrimasi, ptosis, mistagmus, sikloplegia, refleks pupil)
Gastrointestinal, Urinari	Salivasi, berdahak, diare berak atau kencing berdarah, konstipasi, ingusan, muntah-muntah, kencing dan berak tidak terkendali
Kulit	Piloereksi, menggigil (<i>wet dog shake</i>), eritema, edema, nekrosis, bengkak

Dilihat dari konsep bahwa dosis letal (*lethal dose, LD*) merupakan cara untuk menyatakan potensi, maka zat (senyawa) kimia dapat dibagi dalam beberapa kategori yaitu zat yang amat-sangat toksik, sangat toksik, cukup toksik, toksisitasnya lemah, tidak toksik, dan sama sekali tidak berbahaya. Penggolongan zat seperti itu didasarkan pada besarnya dosis yang mampu menimbulkan kematian pada hewan uji dalam uji toksisitas akut yang dilakukan (Ngatidjan, 2006).

Tabel 2. Kategori Zat Toksik Berdasarkan Nilai LD₅₀ (Ngatidjan, 2006)

No.	Kategori	LD ₅₀ (mg/kg BB)
1.	Amat sangat toksik (<i>extremely toxic</i>)	< 1
2.	Toksik sekali (<i>highly toxic</i>)	1 – 50
3.	Cukup toksik (<i>moderately toxic</i>)	50 – 500
4.	Toksitas lemah (<i>low toxic</i>)	500 – 5.000
5.	Tidak toksik (<i>practically non toxic</i>)	5.000 – 15.000
6.	Tidak membahayakan sama sekali	> 15.000

2.2. Sirih Merah (*Piper crocatum*)

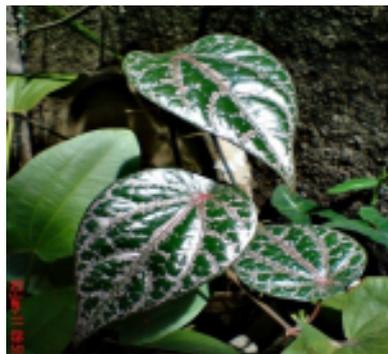
2.2.1. Klasifikasi Sirih Merah

Tanaman sirih merah pada beberapa tempat di Indonesia memiliki sebutan berbeda seperti di Maluku memiliki nama Sirih Talan (Estiara, 2011). Klasifikasi sirih merah menurut Backer (1963) adalah sebagai berikut:

Superkingdom	: Eukariot
Kingdom	: Plantae
Divisi	: Magnoliophyta
Kelas	: Magnoliopsida
Ordo	: Piperales
Famili	: Piperaceae
Genus	: <i>Piper</i>
Spesies	: <i>Piper crocatum</i> Ruiz & Pav

2.2.2. Morfologi Sirih Merah

Tanaman sirih merah tumbuh menjalar seperti halnya sirih hijau. Batangnya bulat berwarna hijau keunguan dan tidak berbunga. Selain itu rasanya juga sangat pahit. Daunnya bertangkai membentuk jantung dengan bagian atas meruncing, bertepi rata dan permukaannya mengilap atau tidak berbulu. Panjang daunnya bisa mencapai 15-20 cm. Batangnya bersulur dan beruas dengan jarak buku 5-10 cm. Di setiap buku tumbuh bakal akar. Daun bagian atas berwarna hijau dengan corak putih keperakan. Warna daun bagian bawah merah hati cerah (Sudewo, 2010). Bila daun sirih merah disobek akan mengeluarkan lendir. Ini yang membedakannya dengan daun sirih hijau. Selain itu aroma sirih merah lebih wangi (Manoi, 2007).



Gambar 1. Tanaman sirih merah (Estiara, 2011)

2.2.3. Habitat Sirih Merah

Tanaman sirih merah tergolong langka karena tidak tumbuh di setiap tempat atau daerah. Sirih merah tidak dapat tumbuh subur di daerah panas dan dapat tumbuh dengan baik di daerah yang berhawa dingin. Tanaman sirih merah akan tumbuh dengan baik jika mendapatkan 60-75 % cahaya matahari dan jika terlalu banyak sinar matahari batangnya cepat mengering. Jika disiram terlalu berlebihan atau pada musim penghujan maka akar dan batang sirih merah akan cepat membusuk (Sudewo, 2010).

2.2.4. Kandungan Sirih Merah

Selama ini pemanfaatan sirih merah di masyarakat hanya berdasarkan pengalaman secara turun-temurun. Di Jawa, khususnya Yogyakarta, sirih merah telah dikonsumsi sejak dahulu untuk menyembuhkan berbagai macam penyakit seperti

ambeien, keputihan, dan sebagai obat kumur. Selain sebagai antiseptik sirih merah juga bisa dipakai untuk mengobati penyakit diabetes, kanker, hipertensi, hepatitis, asam urat, dan sebagainya (Manoi, 2007). Berdasarkan pemeriksaan Kromatografi Lapis Tipis (KLT) yang dilakukan oleh Puspitasari, dapat disimpulkan daun sirih merah mengandung flavonoid, alkaloid, senyawa polifenolat, tanin, dan minyak atsiri (Sudewo, 2010).

Flavonoid adalah sekelompok besar senyawa polifenol tanaman yang tersebar luas dalam berbagai bahan makanan dan dalam berbagai konsentrasi. Kandungan senyawa flavonoid dalam tanaman sangat rendah, sekitar 0,25% (Winarsi, 2007). Senyawa-senyawa ini merupakan zat warna merah, ungu, biru, serta sebagai zat warna kuning yang ditemukan dalam tumbuh-tumbuhan (Lenny, 2006). Salah satu komponen flavonoid yang sering digunakan dalam suplementasi makanan adalah fitoestrogen. Fitoestrogen tersusun atas 3 komponen, yaitu isoflavan, lignan, dan kumestran. Isoflavan banyak terdapat dalam tumbuh-tumbuhan. Isoflavan dan lignan dapat mengontrol glukosa dan resistensi insulin. Secara *in vitro*, mekanisme kerjanya dalam memodulasi sekresi insulin pankreas melalui berbagai mekanisme, yaitu melalui kerja antioksidatif ataupun diperantarai oleh reseptor estrogen (Winarsi, 2007). Flavonoid juga berfungsi sebagai antibakteri dengan cara membentuk senyawa kompleks terhadap protein ekstraseluler yang mengganggu integritas membran sel bakteri (Cowan, 1999).

Alkaloid merupakan metabolit sekunder yang paling banyak diproduksi tanaman. Alkaloid adalah bahan organik yang mengandung nitrogen sebagai bagian dari sistem heterosiklik. Sejak dahulu manusia telah memanfaatkan alkaloid dari tanaman sebagai obat (Manoi, 2007). Hampir semua alkaloid yang ditemukan di alam mempunyai keaktifan biologis tertentu, ada yang sangat beracun tetapi ada pula yang sangat berguna dalam pengobatan. Misalnya kuinin, morfin, dan stiknin adalah alkaloid yang terkenal dan mempunyai efek psikologis. Alkaloid dapat ditemukan dalam berbagai bagian tumbuhan seperti biji, daun, ranting, dan kulit batang (Lenny, 2006). Senyawa ini telah ditemukan memiliki efek mikrobiosidal (termasuk melawan

spesies *Giardia* dan *Entamoeba*) yang merupakan efek antidiare yang dominan karena kemampuan waktu transit dalam usus halus (Cowan, 1999).

Minyak atsiri juga terdapat dalam sirih merah. Dari hasil kromatogram terlihat adanya banyak bercak berwarna merah hingga ungu di sampel daun sirih merah. Hal ini menunjukkan adanya kandungan terpenoid, terutama senyawa monoterpen dan kemungkinan adanya komponen minyak atsiri. Dalam minyak daun sirih biasa juga timbul banyak bercak berwarna ungu, tetapi tetapi profilnya berbeda dengan bercak sampel sirih merah. Berdasarkan hal tersebut dapat diambil kesimpulan sementara bahwa sirih merah memiliki kandungan minyak atsiri, tetapi tidak sama dengan minyak atsiri daun sirih biasa (Sudewo, 2010).

2.3. Minyak Atsiri

Pada permulaan sejarah minyak atsiri, manusia menaruh perhatian besar terhadap pernapasan tanaman yang berbau wangi, dan kemudian dari tanaman yang mudah rusak itu ditemukan adanya senyawa kimia yang menguap. Dari hasil pengamatan ternyata pemanasan tanaman itu mengakibatkan penyebab bau tadi menguap dan pada peristiwa kondensasi dan pendinginan, terbentuk tetesan kondensat berupa cairan yang terdiri dari dua lapisan yaitu lapisan minyak dan air (Guenther, 2006).

Pada mulanya istilah “minyak atsiri” atau “minyak eteris” adalah istilah yang digunakan untuk minyak mudah menguap dan diperoleh dari tanaman dengan cara penyulingan uap (Guenther, 2006). Minyak atsiri lazim juga dikenal dengan nama minyak mudah menguap atau minyak terbang. Definisi minyak atsiri dalam *Encyclopedia of Chemical Technology* menyebutkan bahwa minyak atsiri merupakan senyawa, yang pada umumnya berujud cairan, yang diperoleh dari bagian tanaman, akar, kulit, batang, daun, buah, biji, maupun dari bunga dengan cara penyulingan dengan uap. Penyulingan adalah proses pemisahan komponen-komponen suatu campuran yang terdiri atas dua cairan atau lebih berdasarkan perbedaan tekanan uap

mereka atau berdasarkan perbedaan titik didih komponen-komponen senyawa tersebut (Sastrohamidjojo, 2004).

Minyak atsiri dari satu tumbuhan memiliki aroma yang berbeda dengan minyak atsiri dari tumbuhan lainnya karena setiap minyak atsiri memiliki komponen kimia yang berbeda. Komposisi atau kandungan masing-masing komponen kimia tersebut adalah hal yang paling mendasar dalam menentukan aroma maupun kegunaannya (sebagai pengharum, kosmetik, obat, dan lain-lain). Ditinjau dari segi kimia fisika, minyak atsiri hanya mengandung dua golongan senyawa, yaitu oleoptena dan stearoptena. Oleoptena adalah bagian dari hidrokarbon dari minyak atsiri dan berbentuk cairan. Umumnya senyawa golongan oleoptena ini terdiri atas senyawa monoterpena. Sedangkan stearoptena adalah senyawa hidrokarbon teroksigenasi yang umumnya berwujud padat. Stearoptena ini biasanya terdiri atas senyawa turunan oksigen dari terpena. Jika minyak atsiri memiliki kandungan hidrokarbon tidak beroksigen dalam jumlah besar dan stearoptena dalam porsi kecil, maka kegunaannya lebih diutamakan sebagai pemberi bau yang spesifik atau perancah (*favoring*), sedangkan jika minyak atsiri mengandung lebih banyak senyawa dari golongan hidrokarbon, alkohol, keton, fenol, ester dari fenol, oksida, dan ester, lebih memungkinkan untuk digunakan sebagai obat, karena secara teori diketahui bahwa senyawa-senyawa tersebut memiliki gugus aktif yang berfungsi melawan suatu jenis penyakit (Agusta, 2000).

Aroma yang dibawa dalam tanaman disebut sebagai fraksi minyak esensial. Minyak ini merupakan metabolit sekunder yang kaya kandungannya berdasarkan struktur isoprena. Senyawa tersebut dikenal dengan terpen, dengan struktur kimianya adalah $C_{10}H_{16}$, dan berubah menjadi diterpen, triterpen, dan tetraterpen (C_{20} , C_{30} , dan C_{40}), begitu juga hemiterpen (C_5) dan sesquiterpen (C_{15}). Ketika kandungannya terdapat elemen tambahan, biasanya oksigen, maka disebut dengan terpenoid. Terpenoid disintesis dari unit asetat, dan kebanyakan mereka membagi asalnya dengan asam lemak (Cowan, 1999).

Beberapa jenis bahan tumbuhan digunakan dalam pengobatan karena kandungan minyak atsirinya. Pada beberapa kasus, minyak atsiri digunakan sendiri sebagai obat setelah diekstraksi atau disuling dari sumbernya. Minyak atsiri larut dengan baik dalam lemak, sehingga kebanyakan minyak atsiri dapat menimbulkan iritasi pada kulit dan selaput mukosa. Jika kulit terkontaminasi oleh minyak atsiri dalam waktu yang lama, kulit akan menjadi kemerahan serta meradang dan akhirnya akan melepuh (Agusta, 2000).

2.3.1. Cara Mendapatkan Minyak Atsiri

Untuk mendapatkan minyak atsiri maka dilakukan penyulingan. Proses penyulingan mencakup penanganan produk yang bersifat padat dan persiapan bahan, dengan menjaga supaya bahan dalam keadaan cukup baik sehingga minyak atsiri yang dihasilkan dapat dijamin mutunya. Belum ada penyelidikan yang mendalam mengenai proses yang menunjukkan mekanisme bagaimana uap dapat memisahkan minyak atsiri dari tanaman aromatis. Diduga bahwa uap menembus jaringan tanaman dan menguapkan semua senyawa yang mudah menguap. Hidrodestilasi atau penyulingan dengan air terhadap tanaman meliputi beberapa proses. Ada tiga tipe hidrodestilasi yaitu penyulingan air, penyulingan uap dan air, penyulingan uap langsung (Guenther, 2006). Pada dasarnya ketiga tipe penyulingan tersebut memiliki kesamaan yaitu penyulingan dari sistem dua fase. Perbedaannya terutama pada cara penanganan bahan tanaman yang akan diproses (Sastrohamidjojo, 2004).

a. *Penyulingan Air*

Pada metode ini, bahan yang akan disuling berhubungan langsung dengan air mendidih. Bahan tersebut mengapung di atas atau terendam secara sempurna tergantung dari berat jenis dan jumlah bahan yang disuling. Air dapat dididihkan dengan api secara langsung. Penyulingan air ini mirip dengan bahan tanaman yang direbus secara langsung (Sastrohamidjojo, 2004).

b. *Penyulingan Uap dan Air*

Pada metode penyulingan uap dan air, bahan tanaman diletakkan di atas rak-rak atau saringan berlubang. Ketel suling diisi dengan air sampai permukaan air

berada tidak jauh di bawah saringan. Air dapat dipanaskan dengan berbagai cara yaitu dengan uap jenuh yang basah dan bertekanan rendah (Guenther, 2006).

c. *Penyulingan Uap*

Prinsip penyulingan uap ini sama dengan kedua proses penyulingan sebelumnya, hanya saja tidak ada air di bagian bawah alat. Uap yang digunakan adalah uap jenuh atau uap kelewat panas pada tekanan lebih dari 1 atmosfer. Uap dialirkan melalui pipa uap melingkar yang berpori yang terletak di bawah bahan, dan uap bergerak ke atas melalui bahan yang terletak di atas saringan (Guenther, 2006).

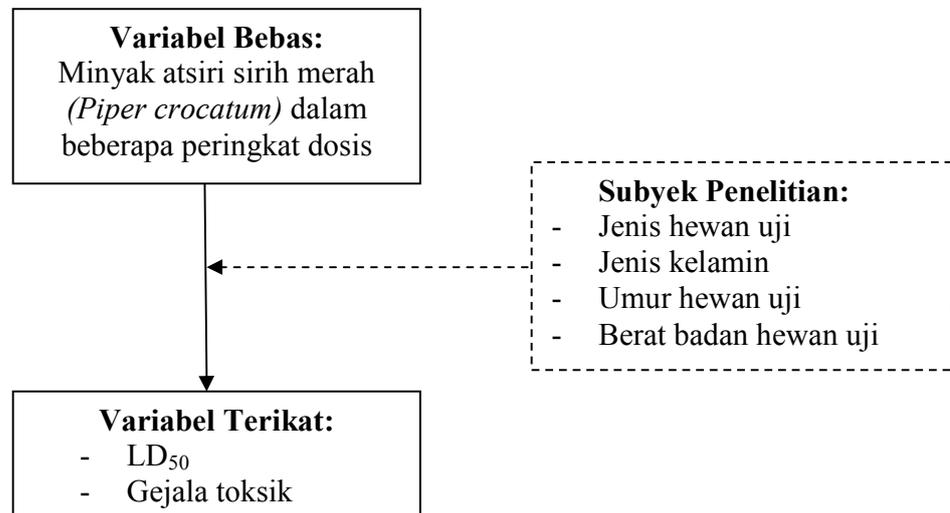
2.4. Landasan Teori

Berdasarkan tinjauan pustaka yang telah dijabarkan di atas diketahui bahwa sirih merah memiliki manfaat yang besar bagi tubuh manusia. Sirih merah selain sebagai tanaman hias yang eksotis, juga bermanfaat sebagai tanaman obat yang dapat menyembuhkan berbagai penyakit, seperti diabetes mellitus, asam urat, tuberkulosis, hiperplasia prostat, bahkan kanker dan masih banyak penyakit lain yang secara empiris dapat disembuhkan. Senyawa yang terkandung di dalamnya antara lain flavonoid, alkaloid, senyawa polifenolat, tanin, dan minyak atsiri (Sudewo, 2010). Penelitian Rachmawaty (2009) membuktikan kemampuan minyak atsiri sirih merah sebagai antituberkulosis. Trianto dan Aprilia (2010) juga membuktikan kemampuan minyak atsiri sirih merah sebagai agen antibakteri terhadap *E.coli* dan *Staphylococcus aureus*.

Selain memiliki banyak kelebihan, tidak dapat dipungkiri bahwa tanaman obat dan obat tradisional juga memiliki beberapa kelemahan. Perlu disadari bahwa ada obat tradisional yang baru diketahui berbahaya setelah melalui beragam penelitian, demikian pula adanya bahan-bahan yang bersifat keras (Katno, 2008). Secara toksikologi, bahan yang berbahaya adalah substansi yang dapat menimbulkan cedera sistem biologis sehingga timbul gangguan fungsi sistem tersebut. Bahan berbahaya yang dimaksud dilihat dari kuantitas racun yang masuk tubuh, cara dan frekuensi masuk ke dalam tubuh baik sebagai dosis tunggal atau berulang, tipe dan derajat

cidera serta waktu yang diperlukan untuk menimbulkan cidera tersebut (Ngatidjan, 1991). Minyak atsiri sirih merah belum diketahui mengenai tingkat keamanan dan toksisitasnya. Oleh sebab itu perlu dilakukan penelitian mengenai tingkat keamanannya. Penelitian uji toksisitas akut minyak atsiri sirih merah (*Piper crocatum*) pada mencit galur DDY diharapkan dapat memberikan pengetahuan mengenai keamanan tanaman ini.

2.5. Kerangka Konsep Penelitian



2.6. Hipotesis

Berdasarkan uraian di atas, hipotesis penelitian ini adalah sebagai berikut:

- 1) Minyak atsiri sirih merah (*Piper crocatum*) aman untuk dikonsumsi pada manusia.
- 2) Minyak atsiri sirih merah (*Piper crocatum*) berdasarkan nilai LD₅₀ memiliki potensi ketoksikan akut kategori tidak toksik (*practically non toxic*).
- 3) Pada dosis terapi tidak ada gejala toksik yang muncul pada pemberian minyak atsiri sirih merah (*Piper crocatum*) terhadap hewan uji.

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1. Rancangan Penelitian

Penelitian ini merupakan jenis penelitian eksperimental laboratorium untuk membuktikan keamanan penggunaan minyak atsiri sirih merah (*Piper crocatum*) pada mencit galur DDY. Penelitian ini menentukan potensi ketoksikan akut yang dinyatakan dengan nilai LD₅₀ dan mengamati gejala toksik yang timbul pada hewan uji setelah pemberian minyak atsiri sirih merah (*Piper crocatum*). Dalam penelitian ini, subyek dibagi menjadi 7 kelompok yang masing-masing terdiri atas 5 jantan dan 5 betina. Setelah waktu yang ditentukan, kemudian diobservasi (diukur) variabel terikat pada tujuh kelompok tersebut. Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Penelitian dan Pengujian Terpadu (LPPT) Unit IV, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.

3.2. Subjek Penelitian

3.2.1. Bahan Uji

Bahan uji yang digunakan dalam penelitian ini adalah minyak atsiri daun sirih merah yang pembuatannya dilakukan dengan penyulingan metode uap air. Sebelumnya daun sirih merah yang akan dibuat minyak atsiri terlebih dahulu dilakukan determinasi tanaman di laboratorium Biologi Farmasi, Fakultas MIPA, Universitas Islam Indonesia, Yogyakarta. Penyulingan minyak atsiri dilakukan di Laboratorium Biologi Farmasi, Fakultas MIPA, Universitas Islam Indonesia, Yogyakarta.

3.2.2. Hewan Uji

Hewan uji yang digunakan dalam penelitian ini adalah mencit galur DDY (*Deutsch Democratic Yokohama*) yang sehat, umur 2 bulan, dengan berat badan mencit jantan 30-33 gram dan mencit betina 25-27 gram. Mencit yang digunakan untuk percobaan harus sehat seperti mata jernih bersinar, bulu tidak berdiri, tingkah

laku normal, memiliki feses normal, dan berat badan yang tidak menurun. Hewan percobaan diperoleh dari Laboratorium Penelitian dan Pengujian Terpadu (LPPT) Unit IV, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.

3.3. Variabel Penelitian

3.3.1. Variabel Bebas

Variabel bebas ialah variabel yang dimanipulasi *performance*-nya untuk dipelajari efeknya pada variabel tergantung (Pratiknya, 2003). Variabel bebas dalam penelitian ini adalah minyak atsiri sirih merah dalam beberapa peringkat dosis.

3.3.2. Variabel Terikat

Variabel terikat yaitu variabel yang dipelajari perubahan *performance*-nya (efek) akibat perlakuan pada variabel lain (Pratiknya, 2003). Variabel terikat dalam penelitian ini adalah nilai LD₅₀ dan gejala toksik yang timbul pada hewan uji.

3.4. Definisi Operasional

- 1) Toksisitas akut adalah efek merugikan yang terjadi segera setelah terpapar suatu zat tunggal atau kombinasi zat dalam waktu kurang dari 24 jam sesudah pemberian suatu bahan, baik sebagai dosis tunggal ataupun berulang.
- 2) Minyak atsiri sirih merah (*Piper crocatum*) merupakan sediaan cair yang diperoleh dengan cara penyulingan dengan uap dan air dari daun sirih merah. Peringkat dosis minyak atsiri yang diberikan pada hewan uji berturut-turut 10,20 mg/kgBB, 66,10 mg/kgBB, 428,43 mg/kgBB, 2777,10 mg/kgBB, 18000,00 mg/kgBB.
- 3) LD₅₀ didefinisikan sebagai dosis tunggal suatu zat yang secara statistik diharapkan akan membunuh 50% hewan coba. Penentuan LD₅₀ pada 24 jam pertama dilakukan dengan cara menghitung kematian hewan uji selama masa uji, kemudian dimasukkan dalam kategori potensi ketoksikan akut sesuai kriteria Loomis, apakah masuk dalam kategori sangat toksik (*extremely toxic*), toksik

sekali (*highly toxic*), toksik (*moderately toxic*), tidak begitu toksik (*low toxic*), tidak toksik (*practically non toxic*), atau tidak membahayakan sama sekali.

- 4) Gejala toksik adalah gejala yang timbul pada hewan uji dengan adanya perubahan pada sistem autonomik, perilaku, sensorik, neuromuskuler, kardiovaskuler, pernafasan, mata, gastrointestinal, genitourinari, kulit, dan kematian. Efek toksik yang diamati pada penelitian ini adalah perubahan perilaku, posisi duduk kepala ke atas, kuku siap mencakar, sikap agresif, ketakutan, peka terhadap bunyi dan sentuhan, tremor, konvulsi, lemas, ekor melengkung ke atas membentuk huruf S (tanda *straub*), palpitasi, lakrimasi, salivasi, ingusan, muntah, diare, kencing berdarah, berak berdarah, kencing tidak terkendali, berak tidak terkendali, menggigil, eritema, bengkak, dan kematian hewan uji.
- 5) Rerata pertambahan berat badan perhari adalah perhitungan berat badan awal hewan uji ditambah berat badan pada saat akhir penelitian yang dibagi 7 hari yang dinyatakan sebagai *Average Daily Gain* (ADG).

3.5. Instrumen Penelitian

3.5.1. Alat

- a. S spuit injeksi dan sonde mencit
- b. Timbangan mencit
- c. Kandang mencit dan perlengkapannya
- d. Seperangkat alat gelas (gelas beker, gelas ukur, pipet, labu takar)

3.5.2. Bahan

- a. Minyak atsiri sirih merah
- b. Isoniazid
- c. Akuades

3.6. Tahap Penelitian

3.6.1. Identifikasi Sirih Merah

Sirih merah yang digunakan dalam penelitian ini adalah jenis tanaman hias, tumbuhan merambat, daunnya bertangkai membentuk jantung dengan bagian atas meruncing, bertepi rata dan permukaannya mengilap atau tidak berbulu. Daun bagian atas berwarna hijau dengan corak putih keperakan. Warna daun bagian bawah merah hati cerah. Kemudian sirih merah dideterminasi di laboratorium Biologi Farmasi, Fakultas MIPA, Universitas Islam Indonesia, Yogyakarta.

3.6.2. Pengambilan Bahan

Bahan diambil langsung pada bulan Agustus 2011, kemudian diidentifikasi dan disesuaikan dengan sumber pustaka yang ada. Daun sirih merah diambil yang cukup tua, warna hijau di bagian atas dan merah di bagian bawah mantap, juga corak keperakannya jelas. Selain itu dipilih daun yang masih segar dan tidak terlalu banyak terkena cahaya matahari karena batangnya akan cepat mengering serta warna hijau dan merah pada daunnya sedikit memudar. Setelah dipetik kemudian daun sirih merah dicuci bersih dan diangin-anginkan selama satu malam.

3.6.3. Pembuatan Minyak Atsiri

Dalam penelitian ini minyak atsiri didapatkan dengan metode penyulingan uap dan air. Setelah diangin-anginkan selama semalam untuk menghilangkan kadar air di dalamnya, daun sirih merah dirajang terlebih dahulu kemudian diletakkan pada saringan berlubang. Ketel suling diisi dengan air sampai permukaan air tidak jauh di bawah saringan dan dipanaskan dengan api. Daun sirih merah tidak terkena langsung dengan air tetapi hanya terkena uapnya saja. Setelah dipanaskan, dari ketel akan keluar uap yang kemudian dialirkan lewat pipa yang terhubung dengan kondensor (pendingin). Uap yang melewati pendingin berubah menjadi air yang sebenarnya merupakan campuran air dan minyak atsiri. Setelah air tersebut menetes di ujung pipa, kemudian di tampung di dalam wadah. Selanjutnya dilakukan proses pemisahan air dan minyak yang dihasilkan tadi, sehingga diperoleh minyak atsiri sirih merah murni.

3.6.4. Pemberian Bahan Uji dan Penetapan Dosis

Bahan uji diberikan peroral dengan sonde mencit, frekuensi pemberian bahan uji hanya sekali selama masa uji. Banyaknya minyak atsiri daun sirih merah yang disondekan pada mencit sebesar 1 mL, sesuai dengan kapasitas lambung mencit. Hewan uji terlebih dahulu dipuasakan selama 18 jam dengan tetap diberi minum. Dosis perlakuan minyak atsiri sirih merah dibagi dalam 5 peringkat. Kelompok kontrol adalah perlakuan isoniazid (obat standard tuberkulosis) sebagai kontrol positif dan akuades sebagai kontrol negatif. Dosis minyak atsiri sirih merah yang diberikan berturut-turut adalah 10,20 mg/kgBB, 66,10 mg/kgBB, 428,43 mg/kgBB, 2777,10 mg/kgBB, dan 18000,00 mg/kgBB. Penentuan dosis terkecil didasarkan pada asumsi bahwa penggunaan daun sirih merah pada manusia untuk pengobatan tuberkulosis sebanyak 5 lembar daun sirih merah yang berukuran besar (Sudewo, 2010). Dari hasil penyulingan didapatkan setiap 1 kg daun sirih merah didapatkan 200 lembar daun sirih merah, 2,5 mL dan 2,25 gram minyak atsiri sirih merah. Sehingga bila digunakan 5 lembar daun sirih merah maka terkandung 56,25 mg minyak atsiri sirih merah. Maka dosis yang biasa digunakan pada manusia 50 kg adalah 56,25 mg. Kemudian dari hasil tersebut dilakukan konversi dosis dari manusia ke mencit dengan tetapan konversi 0,0026 sehingga didapatkan dosis terkecil yaitu 10,20 mg/kgBB. Peringkat dosis tertinggi adalah dosis yang diperkirakan dapat membunuh seluruh hewan uji. Berdasarkan penelitian terdahulu 60 % konsentrasi minyak atsiri dapat membunuh seluruh hewan uji. Diketahui pada konsentrasi 100 % terdapat 900 mg minyak atsiri. Maka pada konsentrasi 60 % didapatkan 540 mg minyak atsiri (untuk mencit dengan berat badan 30 mg) atau 18000 mg/kgBB. Selanjutnya peringkat dosis minyak atsiri kedua, ketiga, dan keempat ditentukan dengan cara menghitung nilai rasio perkalian antara dosis terkecil dan dosis terbesar. Dari hasil perhitungan, didapatkan rasio perkalian adalah 6,482 kemudian dosis terkecil dikalikan 6,481 untuk mendapatkan peringkat dosis kedua, dikalikan lagi dengan 6,481 untuk mendapatkan dosis ketiga, dan sekali lagi dikalikan dengan 6,481 untuk mendapatkan dosis keempat. Obat standar yang digunakan adalah Isoniazid. Dosis Isoniazid yang

diberikan adalah 54,60 mg/kgBB. Penjelasan mengenai penghitungan dosis secara lengkap dapat dilihat pada halaman Lampiran.

3.6.5. Pengelompokan Hewan Uji

Hewan uji yang digunakan adalah mencit galur DDY yang berjumlah 70 ekor dengan jenis kelamin jantan dan betina dan dibagi secara acak menjadi 7 kelompok. Tiap kelompok terdiri atas 10 ekor mencit, 5 mencit jantan dan 5 mencit betina dengan pengelompokan sebagai berikut.

- a. Kelompok I : Kelompok dosis terendah, diberi bahan uji dengan dosis 10,20 mg/kgBB.
- b. Kelompok II : Diberi bahan uji dengan dosis sebesar 66,10 mg/kgBB.
- c. Kelompok III : Diberi bahan uji dengan dosis 428,43 mg/kgBB.
- d. Kelompok IV : Diberi bahan uji dengan dosis 2777,10 mg/kgBB.
- e. Kelompok V : Kelompok dosis tertinggi, diberi bahan uji dengan dosis 18000 mg/kgBB.
- f. Kelompok VI : Kelompok kontrol positif diberi 54,60 mg/kgBB obat standar (Isoniazid).
- g. Kelompok VII : Kelompok kontrol negatif diberi 1 mL akuades.

3.6.6. Penentuan LD₅₀

Jumlah hewan coba yang mati dihitung dan dicatat. Penentuan LD₅₀ dilakukan dengan melihat data kematian mencit pada setiap kelompok perlakuan. Kemudian LD₅₀ minyak atsiri sirih merah dihitung dengan menggunakan metode aritmatik dari Karber dan hasilnya dimasukkan ke dalam kriteria Loomis.

3.6.7. Pengamatan Gejala Toksik

Setelah diberi bahan uji sesuai kelompoknya, tiap hewan uji diamati dan dicatat gejala keracunan yang timbul dalam 24 jam pertama. Pengamatan dilakukan selama 24 jam dan pada 3 jam pertama dilakukan secara intensif terhadap semua kelompok mencit. Kemudian pengamatan dilanjutkan hingga hari ke-7.

Gejala toksik yang diamati adalah perubahan perilaku, posisi duduk kepala ke atas, kuku siap mencakar, sikap agresif, ketakutan, peka terhadap bunyi dan sentuhan,

tremor, konvulsi, lemas, ekor melengkung ke atas membentuk huruf S (tanda *straub*), palpitasi, lakrimasi, salivasi, ingusan, muntah-muntah, diare, berak berdarah, kencing berdarah, kencing tidak terkendali, berak tidak terkendali, menggigil, eritema, bengkak, dan kematian hewan uji.

3.6.8. Pengamatan Rerata Pertambahan Berat Badan

Pertambahan berat badan hewan uji juga dicatat, yaitu pada saat awal penelitian dan akhir penelitian. Perhitungan rerata pertambahan berat badan hewan uji dilakukan secara kuantitatif dengan metode *Average Daily Gain* (ADG).

3.7. Analisis Data

Pengumpulan data dilakukan dengan pengamatan secara langsung dari hasil penelitian yang dibuat. Penelitian dilaksanakan di LPPT Unit IV, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta. Data dari jumlah hewan yang mati selama masa uji dapat dihitung potensi ketoksikan akut minyak atsiri sirih merah dengan menggunakan metode aritmatik dari Karber yang dinyatakan sebagai nilai LD_{50} , hasilnya dimasukkan dalam kategori zat toksik berdasarkan nilai LD_{50} dari Loomis. Hasil pengamatan efek toksik dianalisis secara kualitatif dibandingkan dengan kelompok kontrol. Pertambahan berat badan dihitung reratanya dengan metode *Average Daily Gain* (ADG). Untuk mengetahui normalitas data dilakukan uji normalitas *Kolmogorov-Smirnov* dan *Shapiro-Wilk*. Uji analisis statistik yang digunakan untuk melihat rerata pertambahan berat badan yaitu *Oneway Anova*. Apabila asumsi uji *Oneway Anova* tidak terpenuhi maka digunakan uji nonparametrik *Kruskal Wallis*.

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

3.1. Hasil Penelitian

3.1.1. Bahan Uji

Daun sirih merah diperoleh dari kebun di daerah Sleman, Daerah Istimewa Yogyakarta, pada bulan September 2011. Sirih merah yang digunakan adalah jenis tanaman hias, tumbuhan merambat, daunnya bertangkai membentuk jantung dengan bagian atas meruncing, bertepi rata dan permukaannya mengilap atau tidak berbulu. Daun bagian atas berwarna hijau dengan corak putih keperakan. Warna daun bagian bawah merah hati cerah. Daun sirih merah diambil dari tanaman yang telah cukup tua, warna hijau di permukaan atas dan merah di bagian bawahnya mantap, corak keperakannya juga jelas. Selain itu daun yang dipetik masih segar dan tidak terlalu banyak terkena cahaya matahari karena batangnya akan cepat mengering serta warna hijau dan merah pada daunnya akan memudar. Terlebih dahulu sirih merah dideterminasi di Laboratorium Biologi Farmasi, Fakultas MIPA, Universitas Islam Indonesia, Yogyakarta. Sebelum disuling, daun sirih merah diangin-anginkan selama satu malam dengan tujuan agar kandungan airnya hilang. Daun sirih merah yang akan disuling dirajang terlebih dahulu agar minyaknya dapat mudah keluar. Penyulingan untuk 1 kg daun sirih merah menghasilkan 2,5 mL minyak atsiri dengan berat 2,25 g. Pada penelitian ini, daun sirih yang digunakan seluruhnya sebanyak 10 kg, yang dapat menghasilkan minyak sebanyak 25 mL. Minyak atsiri yang dihasilkan kemudian dibuat bahan uji sesuai peringkat dosis dengan menggunakan pelarut akuades dan emulgator Tween 10. Penghitungan dosis disajikan dalam Lampiran 1.

3.1.2. Penentuan Potensi Ketoksikan Akut (LD₅₀)

Hasil pengamatan pada hewan uji setelah pemberian minyak atsiri daun sirih merah dapat dilihat pada Tabel 3. Pada Tabel 3. tampak bahwa setelah pemberian minyak atsiri daun sirih merah dari pengamatan 24 jam pertama hingga 7 hari, dosis terbesar menimbulkan kematian seluruh hewan uji baik jantan maupun betina.

Sedangkan kelompok dosis keempat hanya menimbulkan kematian satu ekor hewan uji betina sementara yang lainnya tetap hidup sampai akhir pengamatan.

Tabel 3. Jumlah hewan uji yang mati setelah pemberian minyak atsiri daun sirih merah pada pengamatan 24 jam pertama

Kelompok	Perlakuan	N	Jumlah mencit yang mati
I	Bahan uji dosis 10,20 mg/kgBB	10	0
II	Bahan uji dosis 66,10 mg/kgBB	10	0
III	Bahan uji dosis 428,43 mg/kgBB	10	0
IV	Bahan uji dosis 2777,10 mg/kgBB	10	1
V	Bahan uji dosis 18000,00 mg/kgBB	10	10
VI	Isoniazid 54,60 mg/kgBB	10	0
VII	Aquades 1 mL	10	0

Tabel 4. Jumlah hewan uji yang mati setelah pemberian minyak atsiri daun sirih merah pada pengamatan setelah 24 jam pertama hingga hari ke 7

Kelompok	Perlakuan	N	Jumlah mencit yang mati
I	Bahan uji dosis 10,20 mg/kgBB	10	0
II	Bahan uji dosis 66,10 mg/kgBB	10	0
III	Bahan uji dosis 428,43 mg/kgBB	10	0
IV	Bahan uji dosis 2777,10 mg/kgBB	9	0
V	Bahan uji dosis 18000,00 mg/kgBB	0	0
VI	Isoniazid 54,60 mg/kgBB	10	0
VII	Aquades 1 mL	10	0

Berdasarkan data yang ada pada Tabel 3. dan 4., maka dapat dihitung nilai potensi ketoksikan akut (LD50) minyak atsiri daun sirih merah dengan menggunakan metode Aritmatik dari Karber yaitu sebagai berikut.

Tabel 5. Perhitungan LD₅₀ Metode Aritmatik dari Karber pada hewan uji

Kelompok	Dosis (mg/kgBB)	Perbedaan dosis	Mati	Interval rata-rata	Hasil
V	18000,00	15222,9	10	5,5	83725,95
IV	2777,10	2348,67	1	0,5	1174,335
III	428,43	362,33	0	0	-
II	66,10	55,9	0	0	-
I	10,20	10,20	0	0	-
	0				84900,285

$$LD_{50} = 18000,00 - \frac{84900,285}{10} = 9509,97 \text{ mg/kgBB}$$

Berdasarkan hasil perhitungan di atas, jika dimasukkan ke dalam tabel kategori zat toksik berdasarkan LD₅₀ menurut Loomis (Ngatidjan, 2006), maka nilai LD₅₀ (9509,97 mg/kgBB) masuk dalam kategori tidak toksik (*practically non toxic*).

3.1.3. Pengamatan Gejala Toksik

Pengamatan dilakukan secara intensif selama 24 jam pertama setelah pemberian bahan uji. Kemudian dilanjutkan sampai dengan hari ke-7 setiap 12 jam. Gejala toksik yang diamati pada penelitian ini adalah perubahan perilaku, posisi duduk kepala menghadap ke atas, kuku siap mencakar, sikap agresif, ketakutan, peka terhadap bunyi dan sentuhan, tremor, konvulsi, lemas, ekor melengkung ke atas membentuk huruf S (tanda *straub*), palpitasi, terengah-engah, lakrimasi, salivasi, ingusan, muntah-muntah, diare, berak berdarah, kencing berdarah, kencing tidak terkendali, berak tidak terkendali, menggigil, eritema, bengkak, dan kematian hewan uji. Hasil pengamatan gejala toksik pada hewan uji setelah pemberian minyak atsiri daun sirih merah dapat dilihat pada Tabel 6.dan Tabel 7.

Tabel 6. Hasil pemeriksaan gejala-gejala toksik hewan uji selama 24 jam setelah pemberian minyak atsiri daun sirih merah

Kelompok	Perlakuan	N	Gejala Toksik
I	Bahan uji dosis 10,20 mg/kgBB	10	-
II	Bahan uji dosis 66,10 mg/kgBB	10	-
III	Bahan uji dosis 428,43 mg/kgBB	10	-
IV	Bahan uji dosis 2777,10 mg/kgBB	10	Lemas, penurunan nafsu makan
V	Bahan uji dosis 18000,00 mg/kgBB	10	Lemas, penurunan nafsu makan, gangguan pernafasan, kematian
VI	Isoniazid 54,60 mg/kgBB	10	-
VII	Aquades 1 mL	10	-

Keterangan :

- : tidak ada gejala toksik

Tabel 6. menunjukkan bahwa pemberian minyak atsiri daun sirih merah secara oral dosis tunggal dalam 24 jam pertama tidak menimbulkan gejala toksik pada kelompok I, II, III, VI, dan VII. Sedangkan pemberian minyak atsiri daun sirih merah dalam 24 jam pertama menimbulkan gejala toksik pada hewan uji betina kelompok IV dan hewan uji kelompok V baik jantan maupun betina. Gejala toksik yang ditemukan adalah lemas, penurunan nafsu makan, gangguan pernafasan, dan kematian. Namun pada hewan uji betina kelompok IV, gejala terberat hanya terjadi pada satu ekor hewan uji betina yang mengalami kematian, sedangkan hewan uji betina yang lain mengalami *recovery* atau sembuh dari gejala toksik setelah 24 jam pertama.

Tabel 7. Hasil pemeriksaan gejala-gejala toksik hewan uji selama 7 hari

Kelompok	Perlakuan	N	Gejala Toksik					
			H2	H3	H4	H5	H6	H7
I	Bahan uji dosis 10,20 mg/kgBB	10	-	-	-	-	-	-
II	Bahan uji dosis 66,10 mg/kgBB	10	-	-	-	-	-	-
III	Bahan uji dosis 428,43 mg/kgBB	10	-	-	-	-	-	-
IV	Bahan uji dosis 2777,10 mg/kgBB	9	-	-	-	-	-	-
V	Bahan uji dosis 18000,00 mg/kgBB	0	Mati pada 24 jam pertama					
VI	Isoniazid 54,60 mg/kgBB	10	-	-	-	-	-	-
VII	Aquades 1 mL	10	-	-	-	-	-	-

Keterangan :

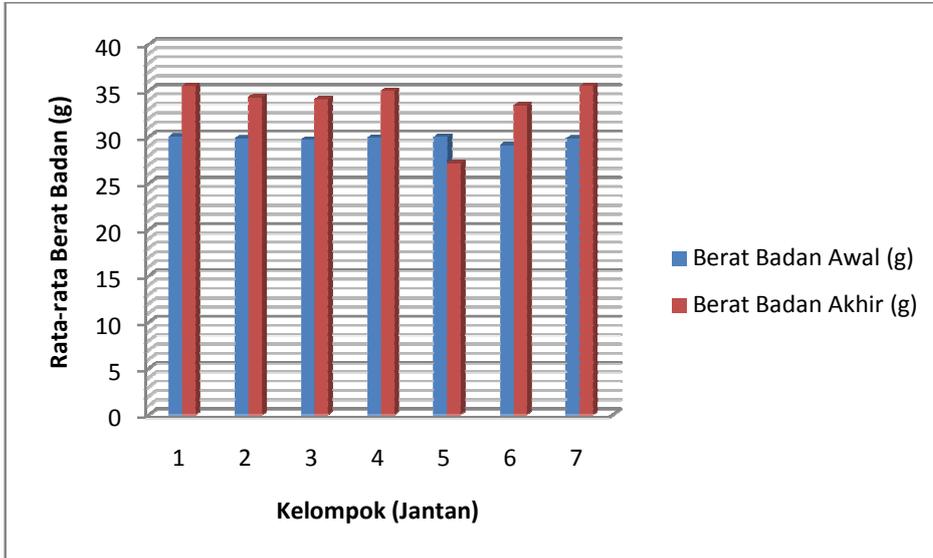
- : tidak ada gejala toksik

Tabel 7. menunjukkan tidak adanya gejala toksik pada hewan uji pada pemberian secara oral dosis tunggal minyak atsiri daun sirih merah setelah 24 jam pertama hingga akhir penelitian. Kelompok dengan dosis tertinggi yaitu kelompok V tidak diamati gejala toksiknya karena telah mengalami kematian.

3.1.4. Pengamatan Rerata Pertambahan Berat Badan

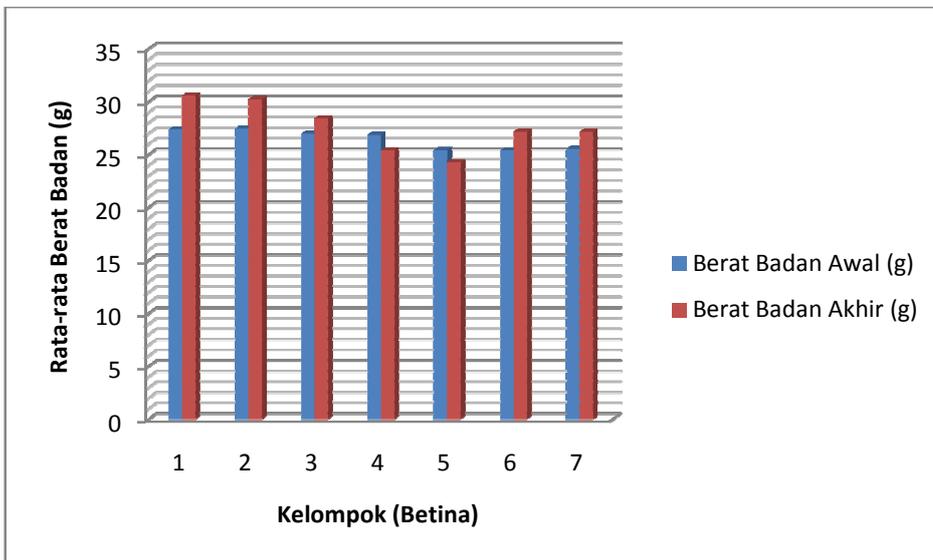
Pada penelitian ini, selain observasi terhadap gejala toksik, perubahan berat badan pada awal dan akhir penelitian juga diamati. Seluruh hewan uji ditimbang berat badannya sebelum diberi perlakuan yang disebut sebagai berat badan awal. Pada akhir penelitian, hewan uji yang masih bertahan hidup juga ditimbang yang disebut sebagai berat badan akhir. Bagi hewan uji yang mengalami kematian, pengukuran berat badan akhir dilakukan sesaat setelah hewan uji mengalami kematian.

Perubahan berat badan awal dan akhir seluruh hewan uji pada masing-masing kelompok dijumlahkan dan dihitung rata-ratanya. Rata-rata perubahan berat badan hewan uji dapat diamati pada Gambar 2. dan Gambar 3.



Gambar 2. Perubahan rata-rata berat badan hewan uji jantan

Berdasarkan data pada Gambar 2. terlihat rata-rata berat badan hewan uji jantan mengalami peningkatan pada akhir penelitian. Sedangkan hewan uji jantan pada kelompok V mengalami penurunan berat badan dan mengalami kematian.



Gambar 3. Perubahan rata-rata berat badan hewan uji betina

Gambar 3. menggambarkan perubahan rata-rata berat badan hewan uji betina yang mengalami peningkatan kecuali pada kelompok IV dan kelompok V. Tiga ekor hewan uji betina pada kelompok IV yang tidak mengalami kematian mengalami penurunan berat badan. Sedangkan hewan uji pada kelompok V seluruhnya mengalami penurunan berat badan dan mengalami kematian. Perubahan berat badan awal dan berat badan akhir penelitian selengkapnya dapat dilihat pada Lampiran.

Kemudian dapat juga dihitung *Average Daily Gain* (ADG) dari data berat badan hewan uji pada tiap kelompok. Caranya adalah dengan mengurangi berat badan akhir dengan berat badan pada awal penelitian sebelum diberikan perlakuan minyak atsiri daun sirih merah, kemudian dibagi dengan 7, yang menunjukkan lamanya masa uji. Data *Average Daily Gain* hewan uji toksisitas minyak atsiri daun sirih merah yaitu sebagai berikut.

Tabel 8. Rerata pertambahan berat badan per hari hewan uji jantan dan betina

Kelompok	<i>Average Daily Gain</i> (ADG) Jantan ± Std. Deviasi	<i>Average Daily Gain</i> (ADG) Betina ± Std. Deviasi
I	0,77 ± 0,12	0,45 ± 0,09
II	0,63 ± 0,10	0,39 ± 0,16
III	0,62 ± 0,16	0,20 ± 0,12
IV	0,72 ± 0,20	-0,23 ± 0,33
V	Tidak dapat ditentukan	Tidak dapat ditentukan
VI	0,61 ± 0,09	0,24 ± 0,18
VII	0,80 ± 0,42	0,23 ± 0,15

Berdasarkan Tabel 8. Pengaruh pemberian minyak atsiri daun sirih merah pada hewan uji jantan kelompok I, II, III, IV, VI, dan VII terjadi peningkatan berat badan yang ditunjukkan dengan nilai *Average Daily Gain* yang positif. Hewan uji jantan kelompok V tidak dapat diukur *Average Daily Gain* dikarenakan semua hewan uji mengalami kematian.

Pada hewan uji betina kelompok I, II, III, VI, VII terjadi peningkatan berat badan yang ditunjukkan dengan nilai *Average Daily Gain* yang positif. Sedangkan hewan uji betina pada kelompok IV memiliki nilai *Average Daily Gain* negatif karena terjadi penurunan berat badan. Hewan uji betina pada kelompok V tidak dapat diukur *Average Daily Gain* karena seluruh hewan uji mengalami kematian.

Sebelum dilakukan uji analisis statistik *Oneway Anova* harus dilakukan uji normalitas dan uji variansi terhadap data yang diperoleh. Pada uji normalitas *Kolmogrov-Sminov* didapatkan nilai $p > 0,05$ dan uji normalitas *Shapiro-Wilk* juga didapatkan nilai $p > 0,05$. Kemudian dilakukan uji variansi didapatkan $p = 0,001$ atau $p < 0,05$. Hal ini menunjukkan bahwa paling tidak terdapat dua kelompok yang mempunyai variansi data yang berbeda secara bermakna, maka supaya asumsi terpenuhi dilakukan transformasi data. Kemudian setelah transformasi data didapatkan maka uji normalitas dan variansi dilakukan kembali. Hasilnya asumsi terpenuhi dengan nilai $p > 0,05$ pada uji normalitas dan $p = 0,054$ atau $p > 0,05$ pada uji variansi, sehingga dapat dilanjutkan dengan uji *Oneway Anova*. Setelah dilakukan uji *Oneway Anova* didapatkan nilai $p = 0,374$ atau $p > 0,05$.

Pada uji ini didapatkan bahwa perbedaan rerata pertambahan berat badan tiap kelompok yang diberi minyak atsiri daun sirih merah dengan berbagai tingkatan dosis dan kelompok kontrol tidak bermakna secara statistik. Hal ini menunjukkan pada kelompok I, II, III, dan IV tidak terdapat perbedaan pertambahan berat badan jika dibandingkan dengan kelompok kontrol.

3.2. Pembahasan

3.2.1. Potensi Ketoksikan Akut (LD_{50})

Hasil uji toksisitas akut pada penelitian ini menunjukkan bahwa pada kelompok kontrol (VI dan VII), kelompok I, kelompok II, dan kelompok III tidak ada respon kematian pada hewan uji, sedangkan pada kelompok dosis IV ditemukan respon kematian, yaitu 1 ekor mencit betina, dan pada dosis V (dosis tertinggi) ditemukan seluruh hewan uji, 5 ekor mencit jantan dan 5 ekor mencit betina,

mengalami kematian. Kematian terjadi dalam 24 jam setelah pemberian secara oral dosis tunggal minyak atsiri daun sirih merah pada hewan uji.

Hal tersebut menunjukkan bahwa pemberian minyak atsiri daun sirih merah memiliki potensi untuk menimbulkan kematian pada hewan uji. Potensi tersebut dapat ditentukan sebagai nilai LD_{50} . *Lethal Dose Median* (LD_{50}) merupakan dosis tunggal suatu zat yang secara statistik diharapkan akan membunuh 50% hewan coba (Lu, 1995). Berdasarkan data kematian hewan uji kemudian dapat ditentukan nilai LD_{50} . Berbagai cara dapat digunakan untuk menghitung nilai LD_{50} berdasarkan data kematian hewan dari uji toksisitas antara lain dengan grafik Miller dan Tainter, Aritmatik Reed dan Muench, metode Weil C.S., dan metode Aritmatik dari Karber (Ngatidjan, 1991). Dalam penelitian ini, peneliti menghitung nilai LD_{50} dengan metode Aritmatik dari Karber. Hasil perhitungan nilai LD_{50} pemberian minyak atsiri daun sirih merah pada hewan uji menggunakan metode Aritmatik dari Karber adalah 9509,97 mg/kgBB. Hasil tersebut mempunyai makna toksikologi bahwa potensi ketoksikan akut sediaan uji minyak atsiri daun sirih merah menurut kategori zat toksik berdasarkan nilai LD_{50} termasuk dalam kategori tidak toksik (*practically non toxic*) yaitu 5.000-15.000 mg/kgBB (Loomis dan Hayes, 1996). Dengan demikian minyak atsiri daun sirih merah sebagai sediaan oral aman untuk dikonsumsi.

Hasil tersebut sesuai dengan penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Rachmawaty dkk. (2010) dengan menggunakan ekstrak etanol daun sirih merah. Setelah pemberian ekstrak etanol daun sirih merah pada hewan uji dibuktikan bahwa ekstrak etanol daun sirih merah tidak membahayakan sama sekali karena mempunyai nilai LD_{50} lebih dari 18 g/kgBB.

Penelitian serupa yang dilakukan oleh Safitri dan Fahma (2005) juga mendukung hasil penelitian ini. Pada uji toksisitas akut dengan menggunakan ekstrak air daun sirih merah, telah dibuktikan bahwa ekstrak air daun sirih merah praktis tidak toksik digunakan yang ditunjukkan dengan meningkatnya bobot badan dan tidak matinya tikus selama 7 hari pengamatan terhadap dosis 0, 5, 10, dan 20 g/kgBB. Tidak adanya kematian pada semua dosis yang diujikan dapat dinyatakan bahwa

ekstrak air daun sirih merah tidak memiliki toksisitas hingga dosis 20 g/kgBB dan aman untuk digunakan.

Perbedaan respon kematian yang terjadi antara mencit jantan dan betina kemungkinan disebabkan oleh perbedaan kepekaan antara mencit jantan dan betina. Mencit betina kemungkinan lebih peka terhadap dosis yang diberikan dibandingkan mencit jantan. Dalam hal ini jenis kelamin menyebabkan perbedaan dalam parameter fisiologik, misalnya komposisi hormon tertentu sehingga dapat menyebabkan mencit betina menjadi lebih peka dalam merespon pemberian minyak atsiri daun sirih merah (Loomis dan Hayes, 1996).

Hasil penelitian memperlihatkan bahwa minyak atsiri daun sirih merah tidak toksik karena memiliki nilai LD₅₀ 9509,97 mg/kgBB, di atas dosis tersebut minyak atsiri daun sirih merah mungkin dapat menimbulkan efek yang tidak diinginkan. Revolusi “*Green*” yang sedang berlangsung di dunia, terutama didasarkan pada keyakinan bahwa obat herbal lebih aman dan kurang merusak tubuh manusia jika dibandingkan dengan obat sintetis. Tetapi obat herbal sebenarnya dapat juga menimbulkan efek samping jika digunakan dalam dosis yang besar, meskipun efek samping tersebut kecil (Mukinda, 2005).

3.2.2. Gejala Toksik

Dalam penelitian ini, beberapa gejala toksik yang muncul akibat pemberian minyak atsiri daun sirih merah juga diamati dan diidentifikasi. Dari hasil penelitian, hewan uji kelompok I, II, III, VI, dan VII tidak menunjukkan gejala toksik. Sedangkan hewan uji betina kelompok IV dan seluruh hewan uji kelompok V mengalami gejala lemas, penurunan nafsu makan, gangguan pernafasan, dan kematian. Hasil ini menunjukkan bahwa pemberian minyak atsiri daun sirih merah sampai di bawah dosis tertinggi (18000,00 mg/kgBB) pada hewan uji ternyata tidak menimbulkan gejala toksik. Sedangkan pada dosis tertinggi sudah dapat menimbulkan gejala toksik.

Pada hewan uji betina kelompok IV, gejala terberat hanya terjadi pada satu ekor hewan uji betina yang mengalami kematian, sedangkan hewan uji betina yang

lain mengalami *recovery* atau sembuh dari gejala toksik setelah 24 jam pertama. Kemampuan *recovery* atau sembuh dari gejala toksik ini merupakan kemampuan bertahan hewan uji terhadap pemberian minyak atsiri daun sirih merah dalam dosis yang cukup tinggi (2777,10 mg/kgBB). Sesuai dengan teori dalam Ngatidjan (2006) bahwa gejala toksik dapat muncul ringan dan masih *reversible* (dapat kembali normal) atau dapat juga *irreversible* (tidak dapat kembali normal). Gejala toksik tersebut timbul akibat oleh aksi suatu zat dan tergantung pada dosis.

Lemas dapat diartikan sebagai penurunan aktivitas lokomotor yang ditandai dengan menurunnya aktivitas hewan uji setelah pemberian minyak atsiri daun sirih merah secara oral dosis tunggal. Penelitian yang dilakukan Campelo dkk. (2011) membuktikan bahwa perlakuan dosis tinggi minyak atsiri *Citrus limon* pada tikus juga menginduksi penurunan aktivitas lokomotor yang mungkin disebabkan oleh efek inhibisi pada sistem saraf pusat atau oleh aktivitas relaksasi otot muskular. Pengaruh yang sama dari minyak atsiri daun sirih merah juga ditunjukkan oleh minyak atsiri *Litsea elliptica* atau yang di Malaysia dikenal sebagai pedang memijat. Penurunan aktivitas lokomotor yang terjadi diduga akibat pengaruh minyak atsiri yang mengakibatkan depresi sistem saraf pusat yang mengontrol aktivitas lokomotor (Masran dkk., 2011).

Penurunan nafsu makan kemungkinan terjadi akibat penurunan aktivitas lokomotor mencit setelah pemberian minyak atsiri daun sirih merah secara oral dosis tunggal. Penurunan aktivitas lokomotor yang dialami hewan uji kemudian menyebabkan mencit kesulitan untuk bergerak dan beraktivitas sehingga tidak dapat mencapai makanan sebelum akhirnya mengalami kematian. Gangguan pernafasan yaitu nafas yang tersengal-sengal terjadi pada seluruh hewan yang mengalami kematian. Gejala yang sama juga terjadi pada hewan uji yang mengalami kematian akibat pemberian minyak atsiri jahe (*Zingiber officinale*). Kemungkinan pada hewan uji terjadi kenaikan kontraksi otot polos pada saluran nafas (Mulyaningsih, dkk., 1999).

3.2.3. Rerata Pertambahan Berat Badan

Pengukuran *Average Daily Gain* (ADG) hewan uji setiap kelompok memperlihatkan kenaikan rata-rata berat badan pada seluruh kelompok perlakuan kecuali pada tiga ekor hewan uji betina kelompok IV yang mengalami penurunan dengan nilai ADG yang negatif. Pertambahan berat badan hewan uji jantan maupun betina menunjukkan bahwa sampai pada dosis tertentu (<18000,00mg/kgBB) pemberian minyak atsiri daun sirih merah memberikan efek terapi dengan menyebabkan peningkatan nafsu makan dan pertambahan berat badan. Nilai ADG pada hewan uji betina kelompok I (dosis terendah) adalah yang tertinggi dibandingkan dengan kelompok II, III, IV, VI dan VII. Semakin tinggi dosis pertambahan berat badan semakin kecil. Bahkan pada kelompok IV mengalami penurunan yang ditunjukkan dengan nilai ADG yang negatif. Begitu pula jika dibandingkan antara dosis terendah dengan kelompok yang mendapat obat standard dan akuades, maka pertambahan berat badan dosis terendah adalah yang terbesar. Sedangkan pada hewan uji jantan tidak menunjukkan hasil yang sama dengan hewan uji betina karena pada hewan uji jantan kelompok IV justru memiliki nilai ADG positif dan lebih besar dibandingkan nilai ADG hewan uji pada kelompok II.

Minyak atsiri daun sirih merah mengandung senyawa golongan monoterpena, monoterpena alkohol dan seskuiterpena. Berdasarkan hasil uji *in vivo* golongan monoterpena dan seskuiterpena berpengaruh terhadap penurunan berat badan hewan uji. Sedangkan golongan monoterpena alkohol berpengaruh terhadap kenaikan berat badan hewan uji (Utami, 2011). Kemungkinan pada dosis terapi aktivitas senyawa golongan monoterpena alkohol lebih dominan sehingga menyebabkan kenaikan berat badan. Tetapi semakin tinggi dosis pemberian minyak atsiri daun sirih merah aktivitas senyawa monoterpena dan seskuiterpena yang lebih dominan sehingga dapat berpengaruh pada berat badan hewan uji.

Berdasarkan hasil uji statistik *Oneway Anova* terhadap *Average Daily Gain* (ADG) hewan uji, rerata pertambahan berat badan hewan uji tidak berbeda secara bermakna pada kelompok I, II, III, dan IV dibandingkan dengan kelompok VI sebagai

kontrol negatif dan kelompok VII sebagai kontrol positif dengan nilai $p > 0,05$. Perbedaan rerata penambahan berat badan yang tidak bermakna ini menunjukkan bahwa kemungkinan penambahan berat badan tidak hanya disebabkan oleh pengaruh dosis pemberian minyak atsiri daun sirih merah, tetapi faktor lain juga dapat berpengaruh. Kondisi lingkungan hewan coba, seperti keadaan kandang, cahaya, makanan dan minuman, suhu kandang, mempengaruhi faktor stress hewan uji yang berkolaborasi dengan faktor internal seperti faktor imun, dan lain sebagainya.

3.2.4. Kelemahan Penelitian

Kekurangan penelitian ini adalah peneliti tidak mengamati beberapa spektrum gejala toksik seperti defekasi, kencing, salivasi, denyur jantung, sekret hidung, dan suhu badan karena keterbatasan sarana sehingga menjadi kendala untuk menilai gejala-gejala tersebut. Selain itu penimbangan berat badan hewan uji hanya dilakukan dua kali sehingga pengamatan pengaruh minyak atsiri daun sirih merah terhadap penambahan berat badan hewan uji kurang maksimal.

BAB V

SIMPULAN DAN SARAN

3.1. Simpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan dan analisis data secara kualitatif dan kuantitatif, maka dapat disimpulkan sebagai berikut.

- 1) Minyak atsiri sirih merah aman dikonsumsi manusia.
- 2) Nilai LD₅₀ minyak atsiri sirih merah adalah 9505,97 mg/kgBB yang dalam kriteria zat toksik menurut Loomis termasuk dalam kategori tidak toksik (*practically non toxic*).
- 3) Pada dosis terapi (10,20 mg/kgBB) tidak ditemukan gejala toksik pada hewan uji. Pada dosis tinggi (18000 mg/kgBB) gejala toksik yang muncul pada hewan uji adalah penurunan aktivitas lokomotor, penurunan nafsu makan, gangguan pernafasan, dan kematian. Rerata pertambahan berat badan hewan uji tiap kelompok tidak berbeda bermakna.

3.2. Saran

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, saran yang dapat diberikan oleh peneliti yaitu sebagai berikut:

- 1) Perlu dilakukan uji toksisitas sub akut dan uji toksisitas kronis minyak atsiri sirih merah dengan dosis berulang dan waktu penelitian yang lebih panjang sehingga dapat diketahui spektrum efek toksik pada pemberian jangka waktu lama dan berulang.
- 2) Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mendapatkan senyawa aktif dalam minyak atsiri sirih merah yang berdaya guna sehingga lebih meminimalkan sifat ketoksikannya.
- 3) Perlu dipersiapkan sarana penunjang yang lebih baik untuk mendapatkan hasil yang lebih valid dan lengkap dalam pengamatan gejala toksik.

DAFTAR PUSTAKA

- Agusta, A., 2000. *Minyak Atsiri Tumbuhan Tropika Indonesia*. Penerbit ITB, Bandung
- Aprilia, D., Rachmawaty, F.J., Nurmasitoh, T., 2010. Uji Kemampuan Antibakteri Minyak Atsiri Daun Sirih Merah (*Piper crocatum*) terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 *In Vitro*, *Karya Tulis Ilmiah*, Pendidikan Dokter, Fakultas Kedokteran, Universitas Islam Indonesia
- Backer, C.A., Den Brink van, B.J.R., 1963. *Flora of Java*, Published under The Auspices of The Rijksherbarium, Leyden
- Campelo, L.M., de Lima, S.D., Feitosa, C.M., de Freitas, R.M., 2011. Evaluation of Central Nervous System Effect of *Citrus limon* Essential Oil in Mice, *Brazilian Journal of Pharmacognosy* 21(4):668-673
- Cowan, M.M., 1999. Plant Products as Antimicrobial Agents, *Clinical Microbiology Reviews*, 12:4,564-582
- Duryatmo, S. 2005. Wajah Ganda Sirih Merah, *Trubus Online*. http://www.trubus-online.co.id/trindo7/index.php?option=com_content&view=article&id=3433:wajah-ganda-sirih-merah&catid=84:laporan-khusus&itemid=461 diakses pada tanggal 9 Agustus 2011.
- Estiara, D., 2011. Sirih Merah: *Piper crocatum*. <http://estiarana.blogspot.com/2011/01/sirih-merah-piper-crocatum.html> diakses pada tanggal 4 Juli 2011.
- Ferihana, Miladiyah, I., Kuswati., 2009. Uji Toksisitas Akut Ekstrak Etanol Biji Pinang (*Areca cathecu*) pada Pemberian secara Oral Dosis Tunggal Pada Mencit Jantan Galur BALB/c, *Karya Tulis Ilmiah*, Pendidikan Dokter, Fakultas Kedokteran, Universitas Islam Indonesia
- Guenther, E., 2006, *Essential Oils*. Ketaren, S., 2006 (Alih Bahasa), Penerbit Universitas Indonesia, Jakarta
- Katno, 2008. *Tingkat Manfaat, Keamanan dan Efektivitas Tanaman Obat dan Obat Tradisional*. Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Tanaman Obat dan Obat Tradisional, Badan Penelitian dan Pengembangan, Departemen Kesehatan RI, Karanganyar

- Lenny, S., 2006, Senyawa Flavonoida, Fenilpropanoida, dan Alkaloida, *Karya Ilmiah*, Departemen Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sumatera Utara.
<http://repository.usu.ac.id/bitstream/123456789/1842/1/06003489.pdf> diakses pada tanggal 2 Juni 2011.
- Loomis, T.A., Hayes, A.Y., 1996. *Essentials of Toxicology* (4th ed.). Academic Press Inc, California
- Lu, F.C., 1995. *Basic Toxicology: fundamentals, target organs, and risk assesment* (2nd ed.). Nugroho, E., (Alih Bahasa), 2006, Penerbit Universitas Indonesia, Jakarta
- Manoi, F., 2007. Sirih Merah sebagai Tanaman Obat Multi Fungsi.
<http://balittro.litbang.deptan.go.id> diakses pada tanggal 2 Juni 2011
- Masran, S.N., Salji, M.R., Othman, H., Budin, S.B., Taib, I.S., 2011. Acute Toxicity (Oral) Information of *Listea elliptica* Essential Oil, *International Conference on Bioscience, Biochemistry and Bioinformatics Singapore* 399-403
- Mukinda, J.T., 2005. Acute and Chronic Toxicity of the Flavonoid-Containing Plant, *Artemisia afra* in Rodents, *Thesis*, Departement of Pharmacology, University of the Western Cape
- Mulyaningsih, B., Pramono, S., Suhardjono, D., 1999. Uji Toksisitas Minyak Atsiri Jahe (*Zingiber officinale*) sebagai Antifilariasis pada Hewan Uji Mencit dan Tikus, *Berkala Ilmu Kedokteran* 31(2):71-76
- Ngatidjan, 1991. *Petunjuk Laboratorium: Metode Laboratorium dalam Toksikologi*. Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta
- Ngatidjan, 2006. *Toksikologi: Racun, Keracunan, dan Terapi Keracunan*. Bagian Farmakologi & Toksikologi Fakultas Kedokteran Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta
- Pratiknya, A.W., 2003. *Dasar-dasar Metodologi Penelitian Kedokteran dan Kesehatan*. PT Raja Grafindo Persada, Jakarta
- Priyanto, 2007. *Toksisitas Obat, Zat Kimia dan Terapi Antidotum*. Lembaga Studi dan Konsultasi Farmakologi, Depok

- Rachmawaty, F.J., 2009. Red Betel Vine (*Piper crocatum*) Essential Oil as Antituberculosis, *Proceeding International Conference on Pharmacy and Advanced Pharmaceutical Science Yogyakarta Indonesia* 128-133
- Rachmawaty, F.J., Hisyam, B., Soesetyo, M.H.N.E., 2010. Sirih Merah (*Piper crocatum*) Sebagai Antituberkulosis Baru Dalam Upaya Menurun Kasus Tuberkulosis di Indonesia, *Laporan Penelitian Stranas*, Fakultas Kedokteran Universitas Islam Indonesia
- Safithri, M., Fahma, F., 2005. Uji Fitokimia dan Toksisitas Ekstrak Air Daun Sirih Merah (*Piper crocatum*) sebagai Penurun Glukosa Darah pada Tikus Putih Hiperglikemik, *Penelitian Dosen Muda*, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Institut Pertanian Bogor
- Sari, L., Pemanfaatan Obat Tradisional dengan Pertimbangan Manfaat dan Keamanannya, *Majalah Ilmu Kefarmasian* 2006;3(1):1-7
- Sastrohamidjojo, H., 2004. *Kimia Minyak Atsiri*. Gadjah Mada University Press, Yogyakarta
- Sudewo, B., 2010. *Basmi Penyakit dengan Sirih Merah*. Agromedia Pustaka, Jakarta
- Trianto, N., Rachmawaty, F.J., Nurmasitoh, T., 2010. Uji Kemampuan Minyak Atsiri Daun Sirih Merah (*Piper Crocatum*) sebagai Antibakteri terhadap *Escherichia coli* ATCC 35218 secara *In Vitro*, *Karya Tulis Ilmiah*, Pendidikan Dokter, Fakultas Kedokteran, Universitas Islam Indonesia
- Utami, M.R., 2011. Fraksinasi Senyawa Aktif Minyak Atsiri Daun Sirih Merah (*Piper cf. fragile*. Benth) Sebagai Pelangsing Aromaterapi Secara *In Vivo*, *Thesis*, Sekolah Pascasarjana, Institut Pertanian Bogor
- Winarsi, H., 2007. *Antioksidan Alami & Radikal Bebas*. Penerbit Kanisius, Yogyakarta