

UJI TOKSISITAS AKUT YANG DIUKUR DENGAN PENENTUAN LD50 EKSTRAK ETANOL BUNGA CENGKEH (*Syzygium aromaticum* L.) TERHADAP MENCIT (*Mus musculus*) MENGGUNAKAN METODE THOMPSON-WEIL

Fakultas Olahraga dan Kesehatan, Universitas Negeri Gorontalo (Moh A. Mustapa)

Email : mad.mustapa@gmail.com

Fakultas Olahraga dan Kesehatan, Universitas Negeri Gorontalo (Tety S. Tuloli)

Email : Tetisutriyati@gmail.com

Fakultas Olahraga dan Kesehatan, Universitas Negeri Gorontalo (Abdul Muis Mooduto)

Email : muis mooduto@gmail.com

ABSTRAK

Cengkeh (*Syzygium aromaticum*) merupakan suatu tanaman yang sering digunakan oleh masyarakat sebagai rempah yang secara empiris dipercaya dapat meredakan sakit gigi. Secara ilmiah cengkeh berkhasiat sebagai antiseptik, antibakteri, antifungi, antiinflamasi, pencegahan kanker pereda stres umum, pembersih darah, gangguan pencernaan, pereda asma dan berbagai gangguan alergi. Dilakukan pengujian toksisitas bertujuan untuk menentukan nilai LD50 pada pemberian ekstrak etanol bunga cengkeh menggunakan metode thompson-weil serta pengaruhnya terhadap tingkah laku hewan. Hewan uji yang digunakan yaitu mencit putih jantan (*Mus musculus*) sebanyak 23 ekor dan terbagi menjadi 5 kelompok. Pemberian campuran ekstrak bunga cengkeh yaitu secara oral dengan dosis awal 0,21 mg/kgbb. Adapun pada uji toksisitas variasi dosis yang digunakan yaitu 0,47 g/kgbb, 0,94 g/kgbb, 1,89 g/kgbb dan 3,78 g/kgbb serta pemberian aquadest sebagai kelompok kontrol. Mencit diamati secara individu selama 24 jam setelah pemberian ekstrak dengan melihat jumlah hewan yang mati dan gejala toksik yang tampak. Dari hasil penelitian didapatkan mencit mati pada dosis 1,89 g/kgbb sebanyak 3 dan pada dosis 3,78 g/kgbb sebanyak 5 mencit sehingga nilai LD50 sebesar 1,75 g/kg.bb dan termasuk ke dalam kategori sedikit toksik. Pemberian bahan uji ekstrak menimbulkan gejala toksik berupa aktifitas jantung menurun, kejang-kejang, terjadi penurunan aktifitas gerak, nafas melambat.

Kata Kunci : Toksisitas Akut, Thompson-Weil, Bunga Cengkeh (*Syzygium aromaticum*)

1. PENDAHULUAN

Latar Belakang

Plinius (*Caius Plinius Secundus Sr.*), berpendapat bahwa semua tumbuhan mempunyai daya pengobatan. Ditilik dari sudut keagamaan, penciptaan alam semesta maupun seisinya oleh Tuhan yaitu untuk memenuhi kepentingan dan keperluan manusia, misalnya sebagai makanan, bahan pengobatan dan lain-lain (Tjitrosoepomo, 2005). Data WHO menyebutkan sistem pengobatan secara tradisional masih melekat pada masyarakat

yakni sekitar 80% dari penduduk dunia. Sejarah panjang menunjukkan bahwa terdapat banyak praktik pengobatan secara tradisional berdasarkan pengalaman dan kemudian diteruskan dari generasi ke generasi, telah menunjukkan keamanan dan kemanjuran obat tradisional. Namun, perlu adanya penelitian ilmiah untuk membuktikan kemanjuran dan keamanan dari obat tradisional tersebut (Muhtadi dkk, 2015).

Indonesia memiliki ekosistem alami dengan keanekaragaman hayati yang

berlimpah, sehingga dimasukkan dalam kawasan alami dengan biodiversitas yang tinggi. Keanekaragaman hayati adalah penting bagi umat manusia karena menyediakan bahan baku untuk makanan, obat-obatan dan industri (Sutarno, 2015). Sebagian besar penggunaan obat di Indonesia masih diolah dengan metode tradisional dan masih berdasarkan resep yang bersifat adat-istiadat atau kebiasaan suatu masyarakat dan belum teruji secara ilmiah sehingga dosis pengobatan, efikasi, identifikasi, toksisitas, standarisasi dan regulasi produk herba masih diragukan. Penggunaan obat herbal menarik perhatian masyarakat baik kalangan akademisi ataupun profesional kesehatan (Utami, 2013) untuk mengetahui tingkat keamanan, manfaat dari penggunaan suatu tanaman yang berkhasiat obat.

Cengkeh (*Syzygium aromaticum*) merupakan suatu tanaman yang sering digunakan oleh masyarakat sebagai rempah dan banyak ditemukan di Indonesia sekitar 95% usaha rakyat dalam bentuk perkebunan yang tersebar diseluruh propinsi (Nurdjannah, 2004). Secara tradisional, cengkeh sejak lama digunakan sebagai bumbu masakan dan masyarakat percaya bahwa dengan mengigit sebutir bunga cengkeh kering dapat menyembuhkan sakit gigi dan terutama untuk menghilangkan bau mulut.

Secara ilmiah, cengkeh dimanfaatkan pada industri rokok, industri minuman, industri makanan, industri kosmetik, industri farmasi dan industri kimia lainnya (Towaha, 2012). Pada bidang industri farmasi, cengkeh termasuk jenis tanaman yang dapat dimanfaatkan sebagai obat-obatan (Milind dan Deepa, 2011) dengan mempunyai segudang manfaat sebagai bahan obat seperti anestetik, obat rematik dan obat batuk (Wiryowidagdo, 2005), selain itu cengkeh juga berkhasiat sebagai antiseptik, antibakteri, antifungi, antiinflamasi, pencegahan kanker pereda stres umum, pembersih darah, gangguan pencernaan, kesehatan kardiovaskular (Bhowmik *et al.*, 2012). Di Korea, cengkeh sering digunakan untuk penyakit asma dan berbagai gangguan alergi (Kim *et al.*, 1998).

Cengkeh banyak disenangi oleh masyarakat dikarenakan pada bunga, daun, dan batang cengkeh mengandung minyak cengkeh yang mempunyai aroma dan rasa khas (Nurdjannah, 2004). Adapun minyak cengkeh dapat diisolasi 1-4% dari daun, 5-10% dari batang, dan 10-20% dari bunga cengkeh (Nurdjannah, 2004).

Berdasarkan kesepakatan yang ditetapkan oleh WHO suatu bahan/zat yang digunakan untuk tujuan pengobatan baik untuk manusia maupun hewan harus melalui tahap uji yaitu uji praklinik dan uji klinik. Peraturan Menteri Kesehatan RI

Nomor 760/menkes/per/IX/1992 menyatakan bahwa obat yang berasal dari tanaman harus dapat dibuktikan khasiat maupun keamanannya. Adapun uji praklinik adalah tahap uji yang tujuannya untuk mengetahui dan menetapkan tingkatan keamanan dan kebenaran khasiat dari suatu bahan/zat uji yang masih dalam dugaan, sehingga secara ilmiah dilakukan uji toksisitas dan uji aktivitas (Meles, 2010).

Uji toksisitas akut merupakan bagian dari uji praklinik yang dirancang untuk mengukur efek toksik suatu senyawa. Toksisitas akut mengacu pada efek toksik yang terjadi setelah pemberian oral dosis tunggal dalam selang waktu 24 jam. Dosis Letal tengah atau LD₅₀ adalah tolak ukur statistik setelah pemberian dosis tunggal yang sering dipergunakan untuk menyatakan tingkatan dosis toksik sebagai data kuantitatif. Sedangkan gejala klinis, gejala fisiologis dan mekanisme toksik sebagai data kualitatifnya (Jenova, 2009).

Philippus Aureolus Theophrastus Bombast von Hohenheim (1493-1541) menyatakan semua yang berkhasiat sebagai obat adalah racun, hanya dosis yang menjadikannya menjadi tidak beracun (Wirasuta, 2016). Begitu juga dengan tanaman cengkeh (*Syzygium aromaticum*), walaupun mempunyai segudang manfaat dan berkhasiat sebagai obat tentu mempunyai efek berbahaya

ataupun efek kematian. Saat ini belum terdapat adanya laporan tentang tingkat keamanan dalam penggunaan cengkeh, oleh karena itu pentingya untuk dilakukan pengujian toksisitas terhadap cengkeh. Hal ini dikarenakan terdapat kandungan dari ekstrak bunga cengkeh yang berkemungkinan membahayakan bagi manusia jika dikonsumsi dengan dosis yang belum dianjurkan dan dalam penggunaan jangka panjang.

Metode Thompson-Weil menggunakan daftar perhitungan LD₅₀ merupakan metode yang sering digunakan dalam penentuan tingkat ketoksikan suatu senyawa. Dipilih metode ini dikarenakan mempunyai tingkat kepercayaan yang cukup tinggi, hasil yang akurat, dan tidak memerlukan hewan coba yang cukup banyak.

Pentingnya mempelajari derajat efisiensi, keamanan dan berbagai macam efek yang ditimbulkan pada penggunaan ekstrak bunga cengkeh (*Syzygium aromaticum*) karena dapat memberikan informasi dan sebagai referensi untuk mempertimbangkan penggunaan tanaman cengkeh sebagai bahan berkhasiat obat sehingga nantinya dapat ditingkatkan statusnya sebagai obat herbal terstandar dan seterusnya.

Secara spesifik, belum ada jurnal ilmiah yang membahas mengenai toksisitas akut dari ekstrak bunga cengkeh.

Namun beberapa data seperti pada jurnal penelitian oleh Francisco *et al.*, (2014) mengatakan bahwa umumnya minyak essensial cengkeh sebagai zat yang aman apabila dikonsumsi dalam konsentrasi lebih rendah dari 1500 mg/kg. Di sisi lain, Organisasi Kesehatan Dunia (WHO) menetapkan bahwa kuantitas harian diterima cengkeh per hari adalah 2,5 mg/kg berat badan pada manusia. Selain itu, berdasarkan penelitian Parle Milind dan Khanna Deepa (2011) dengan judul “*Pro-Cholinergic, Hypo-Cholesteromelic and Memory Improving Effect of Clove*” bahwa serbuk cengkeh yang diberikan peroral tidak bersifat toksik dengan dosis 250 mg/kg dan 2000 mg/kg sehingga perlu adanya penelitian ilmiah lebih lanjut mengenai toksisitas dengan dosis berbeda. Pada penelitian ini dilakukan uji toksisitas akut dengan sampel ekstrak tanaman cengkeh (*Syzygium aromaticum*) pada hewan coba yakni mencit yang diberikan secara peroral untuk mengetahui tingkat keamanan penggunaan tanaman cengkeh sebagai obat menggunakan metode thompson-weil.

2.

2. TINJAUAN PUSTAKA

Tanaman Cengkeh (*Syzygium aromaticum* L. Merr)

Khasiat dan Manfaat

Selain sebagai sumber minyak atsiri, cengkeh mempunyai khasiat sebagai anestetik lokal dan desinfektan sehingga digunakan dalam berbagai obat luar, obat gigi, atau obat kumur. Karena sifatnya antiflogistiknya, cengkeh digunakan sebagai obat rematik dan obat batuk (Wiryowidagdo, 2005).

Cengkeh memiliki sifat antibakteri dan digunakan sebagai krim gigi, pasta gigi, obat kumur, semprotan tenggorokan untuk mengilangkan bakteri serta mengurangi rasa sakit gusi. Cengkeh juga dapat digunakan sebagai antiinflamasi agen, karena mengandung flavonoid yang tinggi, terapi aroma menggunakan minyak cengkeh alami untuk menyembuhkan gejala dari rematik dan arthritis. Cengkeh digunakan sebagai karminatif, untuk meningkatkan asam hidroklorid pada lambung dan untuk memperbaiki gerak peristaltik. Cengkeh bermanfaat mengontrol kadar glukosa darah untuk pasien diabetes. Eugenol cukup kuat untuk mencegah penggumpalan darah, meningkatkan sistem imun, memurnikan darah, membantu melawan berbagai macam penyakit, sebagai ekspektoran yang baik. Cengkeh dapat menstimulasi aliran darah dan sirkulasi (Milind dan Deepa, 2011).

Toksisitas

Toksisitas merupakan istilah dalam toksikologi yang didefinisikan sebagai kemampuan senyawa untuk menyebabkan kerusakan atau injuri. Istilah toksisitas merupakan istilah kualitatif yang terjadi atau tidak terjadinya kerusakan yang tergantung pada jumlah unsur senyawa toksik yang terabsorpsi. Proses pengrusakan ini baru terjadi apabila pada organ target telah telah menumpuk menjadi satu dalam jumlah yang cukup dari bagian toksik atau metabolitnya, begitu pula hal ini bukan berarti bahwa penumpukan yang tertinggi dari agen toksik itu berada di organ target, tetapi bisa juga ditempat lain. Selanjutnya, untuk sebagian besar senyawa toksik pada konsentrasi yang tinggi dalam tubuh akan menimbulkan kerusakan yang lebih banyak. Konsentrasi senyawa toksik dalam tubuh merupakan jumlah racun yang dipaparkan, kemudian berkaitan dengan kecepatan absorpsinya, jumlah yang diserap, dan berhubungan dengan distribusi, metabolisme maupun ekskresi senyawa toksik tersebut (Mansur, 2008).

Suatu bahan/zat toksik akan mengalami proses liberasi yaitu pelepasan substansi zat aktif di saluran pencernaan. Zat tersebut kemudian akan mengalami proses absorpsi oleh darah dan limfe serta didistribusikan keseluruh tubuh. Zat toksik akan mengalami proses toksikodinamik didalam sel. Toksikodinamik adalah proses

reaksi antara toksikan dan reseptor yang menyebabkan terjadinya perubahan fungsi. Biotransformasi terjadi setelah terjadinya reaksi toksikan dengan reseptor. Biotransformasi akan menghasilkan zat baru. Zat baru yang dihasilkan dapat bersifat lebih toksik atau kurang toksik dari sebelumnya. Zat baru yang kurang toksik dari sebelumnya mengakibatkan terjadinya detoksikasi sedangkan zat baru yang lebih toksik dapat menimbulkan gangguan fungsi sel (Mutschler, 1991).

Pada umumnya pajanan zat kimia tidak dapat dihindari (pada kasus tertentu bahkan dikehendaki), seharusnya dilakukan evaluasi toksikologi terhadap kebanyakan zat kimia untuk menentukan tingkat pajanan yang kiranya tidak menimbulkan resiko. Umumnya uji toksisitas bertujuan untuk menilai resiko yang mungkin ditimbulkan dari suatu zat kimia toksikan pada manusia. Untuk mengenali suatu zat kimia maka perlu dikenali bahaya yang mungkin ditimbulkan. Hal ini dilakukan dengan mengumpulkan serta menyusun data toksisitas yang relevan dan data yang berkaitan (Lu, 1995).

Tujuan akhir dari uji toksikologi dan penelitian lainnya yang berkaitan menilai keamanan atau resiko toksikan pada manusia, idealnya data yang dikumpulkan dari manusia. Tetapi karena hambatan etik tidak memungkinkan langsung dilakukan

uji toksisitas pada manusia. Oleh karena itu uji toksikologi umumnya dilakukan pada binatang, hewan sel tunggal, atau sel kultur. Dari data-data tersebut dilakukan ekstrapolasi ke manusia guna memenuhi tujuan akhir dari uji toksikologi tersebut (Hodgson, 2000).

Uji toksisitas terdiri dari toksisitas umum (seperti akut, subkronis, kronis) dan toksisitas khusus (seperti mutagenik, teratogenik dan karsinogenik) (Depkes RI, 2000).

Uji toksisitas akut

Sebagian besar penelitian toksisitas akut dirancang untuk menentukan LD_{50} obat. LD_{50} obat didefinisikan sebagai dosis tunggal suatu zat yang secara statistik diperkirakan akan membunuh 50% hewan percobaan (Radji dan Harmita, 2008).

Uji ini dilakukan dengan memberikan zat kimia yang sedang di uji sebanyak satu kali atau beberapa kali dalam jangka waktu 24 jam, kemudian diamati selama 14 hari (Hendriani, 2007) uji toksisitas akut bertujuan untuk mengamati efek toksik suatu senyawa yang bisa terjadi dalam jangka waktu yang singkat setelah pemberiannya dengan takaran tertentu. Paling tidak empat peringkat dosis yang dianjurkan dalam pengujian toksisitas akut, dosis tersebut berkisar dari dosis rendah yang tidak atau hampir mematikan seluruh hewan uji sampai dengan dosis tertinggi yang dapat

mematikan seluruh atau hampir seluruh hewan uji (Fadli, 2015).

Tujuan uji toksisitas akut suatu obat tradisional adalah untuk menetapkan potensi toksisitas akut (LD_{50}) menilai berbagai gejala klinis, spektrum efek toksik, dan mekanisme kematian (Depkes RI, 1989) dalam Angelina dkk (2008). Untuk uji toksisitas akut obat tradisional perlu dilakukan pada sekurang-kurangnya satu spesies pengerat yaitu mencit atau tikus (Lu, 1995).

Prosedur awal untuk menentukan toksisitas akut senyawa baru adalah dengan membuat satu kisaran dosis untuk diberikan pada hewan uji. Takaran dosis yang dianjurkan paling tidak empat peringkat dosis, berkisar dari dosis terendah yang belum memberikan efek kematian seluruh hewan uji sampai dosis tertinggi yang dapat mematikan seluruh atau hampir seluruh hewan uji (Donatus, 1998).

Untuk menentukan LD_{50} secara tepat, perlu dipilih suatu dosis yang akan membunuh sekitar separuh jumlah hewan uji, dosis lain yang akan membunuh lebih dari separuh dan dosis ketiga yang akan membunuh kurang dari separuh dari jumlah hewan uji. Sering digunakan empat dosis atau lebih dengan harapan bahwa sekurang-kurangnya tiga dosis diantaranya akan berada dalam rentang dosis yang dikehendaki (Lu, 1995).

Prinsip dari uji toksisitas ini adalah suatu substansi tes diberikan secara oral dengan menggunakan alat bantu sonde dengan jarum intubasi dengan ukuran 3 inch dengan ujung bulat (*ball-tipped*) dalam dosis yang telah ditentukan pada beberapa grup dari hewan percobaan. Selanjutnya observasi selama 14 hari setelah pemberian untuk melihat efek toksik dan kematian. Hasil akhir akan didapatkan LD₅₀ (Barile, 2005: OECD, 1981). Biasanya pengamatan dilakukan selama 24 jam, kecuali pada kasus tertentu selama 7-14 hari. Pengamatan tersebut, meliputi: (1) gejala-gejala klinis, (2) jumlah hewan uji yang mati, dan (3) histopatologi organ (Donatus, 2005).

Uji toksisitas sub kronik

Prinsip dari uji toksisitas ini adalah suatu substansi tes diberikan secara oral dalam dosis berjangka yang telah ditentukan pada beberapa grup dari hewan percobaan, suatu dosis per grup, dalam periode 90 hari dengan cara yang sama dengan pemberian pada tes akut. Selanjutnya selama periode pemberian substansi dilakukan observasi setiap hari untuk mengetahui adanya tanda-tanda toksisitas. Pada akhir tes hewan yang mati selama tes dan hewan yang bertahan hidup diautopsi untuk dilakukan pemeriksaan hispatologi (Barile, 2005).

Uji Toksisitas Kronik

Uji Toksisitas Kronik atau jangka panjang dilakukan dengan memberikan bahan uji 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).

Tujuan toksisitas kronik adalah untuk memperoleh informasi adanya efek toksik zat yang tidak terdeteksi pada uji toksisitas subkronik, karakterisasi toksisitas dari suatu sediaan uji yang dipaparkan dalam waktu lama dan berulang, dan menentukan dosis yang tidak menimbulkan efek toksik (BPOM, 2014).

Penentuan Lethal Dose 50

Pada dasarnya, nilai tes LD₅₀ yang harus dilaporkan selain jumlah hewan yang mati, juga harus disebutkan durasi pengamatan. Bila pengamatan dilakukan dalam 24 jam setelah perlakuan, maka hasilnya tertulis "LD₅₀ 24 jam". Namun seiring perkembangan, hal ini sudah tidak diperhatikan lagi, karena pada umumnya tes LD₅₀ dilakukan dalam 24 jam pertama sehingga penulisan hasil tes "LD₅₀" saja sudah cukup untuk mewakili tes LD₅₀ yang diamati dalam 24 jam. Bila dibutuhkan, tes ini dapat dilakukan lebih dari 14 hari. Contohnya, pada senyawa tricresyl phosphat, akan memberikan pengaruh secara neurogik pada hari 10-14,

sehingga bila diamati pada 24 jam pertama tidak akan menemukan hasil yang berarti. Dan jika begitu tentu saja penulisan hasil harus disertai dengan durasi pengamatan (Loomis, 1987).

Data kuantitatif yang diperoleh dari uji ketoksikan akut ini ialah LD₅₀ sedang data kualitatifnya berupa pengamatan klinis dan morfologis efek toksik senyawa uji. Data LD₅₀ yang diperoleh digunakan untuk menentukan potensi ketoksikan akut senyawa relatif terhadap senyawa lain dan dapat digunakan untuk memperkirakan takaran dosis uji toksikologi lainnya. Beberapa metode uji ketoksikan akut (LD₅₀) antara lain: Aritmatik Reed dan Muench (1983), Aritmatik dari Karber (1931), C.S Weil (1952), cara Farmakope Indonesia (Donatus, 2005).

3. METODE PENELITIAN

Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Bahan Alam dan Laboratorium Farmakologi dan Toksikologi, Jurusan Farmasi, Fakultas Olahraga dan Kesehatan, Universitas Negeri Gorontalo Jl. Jenderal Sudirman No. 6, Dulalowo Timur, Kota Tengah, Kota Gorontalo, Provinsi Gorontalo, yang dimulai dari bulan Januari 2017.

Desain Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian yang bersifat eksperimen yang bertujuan

untuk melihat nilai LD₅₀ ekstrak bunga cengkeh (*Syzygium aromaticum*) terhadap mencit menggunakan metode Thompson Weil.

Prosedur Penelitian

Persiapan dan Pembuatan Simplisia

Bunga cengkeh (*Syzygium aromaticum*) yang didapatkan dari desa sinombayuga, kecamatan posigadan, kabupaten bolaang mongondow selatan, Sulawesi Utara sudah dalam bentuk kering (telah selesai dijemur). Setelah itu diserbukan menggunakan blender.

Pembuatan Ekstrak Bunga Cengkeh

Metode ekstraksi yang digunakan yaitu metode maserasi dimana serbuk simplisia cengkeh (*Syzygium aromaticum*) 400 gram dimasukkan kedalam wadah inert atau topless kaca kemudian dimasukkan pelarut etanol sebanyak 1000 mL. Diaduk menggunakan stirrer dan sesekali dikocok. Diamkan selama 1-2 hari setelah itu, dipisahkan residu dan filtrat menggunakan kertas saring. Filtrat yang diperoleh dikumpulkan dan dipekatkan.

Penyiapan Hewan Uji

Hewan percobaan diaklimatisasi terlebih dahulu selama 10 hari agar dapat menyesuaikan diri dengan lingkungan dan selama proses adaptasi mencit diberi makan jagung, wortel dan diberi minum dari ketimun. Mencit juga dipuaskan makan selama 8 jam namun tetap diberikan air sebelum dilakukan perlakuan.

Penetapan Dosis

Dosis yang digunakan berdasarkan penelitian Parle Milind dan Khanna Deepa (2011) terhadap serbuk cengkeh yang diberikan peroral tidak menyebabkan kematian pada dosis tertinggi yaitu 2000 mg/kg, p.o. kedua dosis 250 mg/kg dan 2000 mg/kg didapatkan tidak menimbulkan efek toksik. Pada uji pendahuluan, terlebih dahulu di uji dosis terendahnya yaitu 2000 mg/kg.BB.

Pengelompokkan Hewan Uji

Mencit sebanyak 23 ekor dibagi menjadi lima kelompok perlakuan secara acak, yaitu satu kelompok kontrol yang diberikan dengan aquadest dan empat kelompok perlakuan yang diberikan dosis ekstrak sehingga masing masing kelompok hewan uji terdiri dari 5 ekor mencit jantan.

Tabel 3.1. Pembagian Kelompok Uji Pendahuluan

| Kelompok | Jumlah Mencit | Perlakuan |
|----------|---------------|-----------|
| Kontrol | 1 | Aquadest |
| I | 2 | Diberi |

| | | |
|-----|---|-----------------------------|
| | | dosis I (2 g/kg/BB) |
| II | 2 | Diberi dosis I (6 g/kg/BB) |
| III | 2 | Diberi dosis I (18 g/kg/BB) |
| IV | 2 | Diberi dosis I (54 g/kg/BB) |

Tabel 3.2 Pembagian Kelompok Perlakuan Uji Toksisitas

| Kelompok | Jumlah Mencit | Perlakuan |
|----------|---------------|-----------------------------|
| Kontrol | 3 | Aquadest |
| I | 5 | Diberi dosis I (5 g/kg/BB) |
| II | 5 | Diberi dosis I (8 g/kg/BB) |
| III | 5 | Diberi dosis I (18 g/kg/BB) |

| | | |
|----|---|-----------------------------|
| IV | 5 | Diberi dosis I (36 g/kg/BB) |
|----|---|-----------------------------|

Uji Toksisitas Akut (LD₅₀)

Pada uji toksisitas akut LD₅₀ setiap kelompok perlakuan diberi ekstrak bunga cengkeh yang telah dilarutkan kedalam aquadest secara oral menggunakan sonde dengan tingkatan dosis yang berbeda yaitu 4 kelompok tingkatan dosis dan 1 kelompok kontrol. Mencit diamati selama 1-4 jam untuk melihat adanya gejala toksik yang tampak. Pengamatan dilakukan kembali pada 24 jam setelah pemberian dosis dengan menghitung jumlah mencit yang mati pada kelompok percobaan.

Analisis Data

Metode Penentuan Lethal Dose 50

$$\text{Log } m = \log D + d(f$$

+ 1)

Keterangan:

m = harga LD₅₀

D = dosis terkecil yang digunakan

d = log r (kelipatan dosis)

f = faktor

Rentang LD₅₀ dapat ditentukan dengan:

Batas atas LD₅₀ = antilog (log m + 2 δ log m)

Batas bawah LD₅₀ = antilog (log m - 2 δ log m)

$$\delta \log m = d \times \delta f$$

δ f = faktor dalam tabel biometrik

4. HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

Hasil Penelitian

Rendemen Ekstrak Bunga Cengkeh

Telah dilakukan ekstraksi bunga cengkeh (*Syzygium aromaticum*) dengan menggunakan metode maserasi dan diperoleh hasil rendemen sebagai berikut:

Tabel 4.1.1 Hasil Rendemen Ekstrak Bunga Cengkeh

| Bobot Simplisi a | Bobot Ekstra k | %Rendeme n |
|---------------------|-------------------|---------------|
| 400 g | 42 g | 10,5% |

Proses ekstraksi dilakukan selama 24

jam dan sesekali dikocok dan diaduk menggunakan stirrer. Adapun simplisia yang diekstraksi yaitu sebanyak 400 gram dan mendapatkan bobot ekstrak kental sebesar 42 gram sehingga persen rendemen yang didapat yaitu sebesar 10,5%. Adapun hasil persen rendemen yang didapat memenuhi syarat berdasarkan Dirjen POM (2000) dalam Vitasari (2013) bahwa hasil rendemen yang dipersyaratkan apabila proses ekstraksi berlangsung sempurna yaitu 10%-15%.

Uji Skrining Fitokimia

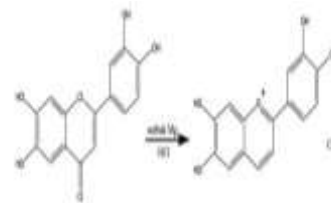
Telah dilakukan uji penapisan fitokimia pada sampel bunga Cengkeh (*Syzygium aromaticum*) dan diperoleh hasilnya sebagai berikut:

Tabel 2 Hasil Uji Skrining Fitokimia

| Senyawa aktif | Cara Kerja | Hasil Uji | Ket |
|---------------|--|--------------|---------------|
| Flavonoid | Ekstrak 0,5 g dalam cawan ditambahkan 2 mL metanol kemudian diaduk, ditambahkan serbuk magnesium 0,5 g dan 3 tetes HCl pekat | Warna jingga | (+) Flavonoid |
| Tanin | Ekstrak 0,5 g dalam cawan ditambahkan 2 | Warna merah | (-) Tanin |

| | | | |
|--|---|--|--|
| | mL metanol kemudian diaduk dan ditambahkan FeCl ₃ sebanyak 3 tetes | | |
|--|---|--|--|

Skrining fitokimia dilakukan dengan cara memeriksa golongan senyawa kimia yang terdapat dalam ekstrak bunga Cengkeh. Hasil skrining fitokimia menunjukkan bahwa ekstrak bunga cengkeh (*Syzygium aromaticum*) mengandung flavonoid. Hal ini dapat dilihat pada perubahan warna jingga yang berarti positif flavonoid. Berikut reaksi yang terjadi:



Pada uji ini, magnesium dan asam klorida bereaksi membentuk gelembung-gelembung gas H₂. Penambahan logam Mg dan HCl pekat berfungsi untuk mereduksi inti benzopiron yang terdapat pada struktur flavonoid sehingga terbentuk

warna merah atau jingga. Jika didalam suatu ekstrak terdapat senyawa flavonoid akan terbentuk garam flavilium saat penambahan Mg dan HCl yang berwarna merah atau jingga (Setyowati, 2014). Penambahan HCl dalam uji kualitatif flavonoid berguna sebagai penghidrolisis flavonoid menjadi aglikonnya, yaitu dengan menghidrolisis O-glikosil. Glikosil akan tergantikan oleh H⁺ dari asam, karena sifatnya yang elektrofilik. Glikosida berupa gula yang biasa dijumpai yaitu glukosa, galaktosa dan ramnosa. Serbuk Mg menghasilkan senyawa kompleks yang berwarna merah, kuning, maupun jingga (Marliana dkk, 2005).

| | | | | |
|-----|---|----|------|---|
| II | 2 | 6 | 0,63 | 0 |
| III | 2 | 18 | 1,89 | 1 |
| IV | 2 | 54 | 5,67 | 2 |

Telah dilakukan uji pendahuluan dengan penggunaan dosis terendah yaitu 2000 mg/kgbb dalam bentuk dosis serbuk sehingga untuk mendapatkan dosis dalam bentuk ekstrak maka dikalikan dengan persen rendemen (10,5%) didapatkan hasil dosis ekstrak yaitu 0,21 mg/kgbb. Untuk menentukan tingkatan dosis selanjutnya digunakan kelipatan dosis 3.

Adapun hasil pada uji pendahuluan pada dosis kontrol yang diberikan Aquadest, dosis I, dan dosis II tidak menimbulkan kematian, pada dosis III terdapat 50% kematian (1 mencit mati) sedangkan pada dosis IV terdapat 100% kematian (2 mencit mati).

Hasil Uji Pendahuluan

Tabel 4.1.3 Uji Pendahuluan

| Kelompok | Jumlah Mencit | Dosis (g/kgbb) | D. Ekstrak (g/kgbb) | Kematian |
|----------|---------------|----------------|---------------------|----------|
| Kontrol | 1 | Aquadest | - | 0 |
| I | 2 | 2 | 0,21 | 0 |

Hasil Uji Toksisitas

Tabel 4.1.4. Uji Toksisitas Akut

| Kelompok | Jumlah Mencit | Dosis (g/kgbb) | D. Ekstrak (g/kgbb) | Kematian |
|----------|---------------|----------------|---------------------|----------|
| Kontrol | 3 | Aquadest | - | 0 |

| | | | | |
|-----|---|-----|------|---|
| I | 5 | 4,5 | 0,47 | 0 |
| II | 5 | 9 | 0,94 | 0 |
| III | 5 | 18 | 1,89 | 3 |
| IV | 5 | 36 | 3,78 | 5 |

Telah dilakukan uji toksisitas akut dengan jumlah mencit sebanyak 5 pada masing masing kelompok dan pada dosis kontrol dengan jumlah mencit 3. Pada dosis I dan II tidak terdapat kematian, pada dosis III terdapat 60% kematian dengan jumlah mencit yang mati sebanyak 3 sedangkan pada dosis IV terdapat 100% (semua mencit mengalami kematian) sehingga urutan kematiannya (r) yaitu 0,0,3,5.

Hasil Pengamatan Gejala Klinis

Tabel 5 Gejala Klinis

| Dosis | Mencit | Gejala Klinis |
|---------|----------|---|
| Dosis I | Mencit 1 | Setelah pemberian bahan uji ekstrak bunga cengkeh |
| | Mencit 2 | |
| | Mencit 3 | |
| | Mencit 4 | |
| | Mencit 5 | |

| | | |
|-----------|----------|---|
| | | (<i>Syzygium aromaticum</i>) mencit beraktifitas sebagaimana biasa (normal) dan tidak terlihat adanya gejala toksik. |
| Dosis II | Mencit 1 | Mencit beraktifitas sebagaimana biasa, tidak terlihat adanya tanda tanda toksik |
| | Mencit 2 | Tremor |
| | Mencit 3 | Gelisah, detak jantung cepat, bulu berdiri |
| | Mencit 4 | Bingung, gelisah |
| | Mencit 5 | Mencit beraktifitas sebagaimana biasa, tidak terlihat adanya tanda tanda toksik |
| Dosis III | Mencit 1 | Gelisah, jantung berdebar kencang, kaki belakang menjadi lumpuh |

| | | |
|----------|----------|--|
| | | dan lemas |
| | Mencit 2 | Jantung berdebar kencang |
| | Mencit 3 | Lemas, kaki belakang menjadi lumpuh dan lemas |
| | Mencit 4 | Jantung berdebar kencang, keluar air mata |
| | Mencit 5 | Lemas, gelisah |
| Dosis IV | Mencit 1 | Lemas, terjadi penurunan aktifitas, nafas melambat, kaki belakang lumpuh |
| | Mencit 2 | Lemas dan terjadi penurunan aktifitas, nafas setengah-setengah |
| | Mencit 3 | Lemas, terjadi penurunan aktifitas, nafas melambat, kaki belakang lumpuh |
| | Mencit 4 | Lemas, terjadi penurunan |

| | | |
|--|----------|---|
| | | aktifitas, nafas melambat |
| | Mencit 5 | Lemas, terjadi penurunan aktifitas, nafas setengah-setengah |

Pada pengamatan gejala klinis dilakukan selama \pm 30 menit setelah pemberian dosis dan seterusnya selama 4 jam sampai 24 jam. Hewan menunjukkan gejala-gejala toksisitas pada sistem pernafasan, perubahan aktifitas, aktifitas jantung, kelumpuhan. Pengamatan yang dilakukan termasuk pada: kulit, bulu, mata, dan juga sistem saraf otonom, sistem saraf pusat, aktivitas somatomotor serta tingkah laku. Selain itu, perlu juga pengamatan pada kondisi: gemetar, kejang, salivasi, diare, lemas, tidur dan koma. Adapun mencit yang mati berada pada dosis III dengan mencit 1,3,4 sedangkan pada dosis IV semua mencit mengalami kematian.

4.2 Pembahasan

Pada penelitian ini menggunakan sampel uji bunga cengkeh (*Syzygium aromaticum*) yang diperoleh dari Desa Sinombayuga, Kecamatan Posigadan, Kabupaten Bolaang-Mongondow Selatan yang sudah dikeringkan selama 2-3 hari. Sampel bunga cengkeh kering tersebut diserbukkan dengan menggunakan

blender. Tujuan diserbukkan yaitu agar permukaan dari bunga cengkeh menjadi lebih luas sehingga senyawa yang terkandung didalamnya dapat terekstraksi sempurna. Sampel diuji penapisan fitokimia untuk mengetahui kandungan yang terdapat didalamnya. Pada uji flavonoid, ekstrak kental dilarutkan dengan alkohol kemudian ditambahkan Mg dan HCl masing-masing sebanyak 2 tetes dan dikocok, dibiarkan sampai terjadi perubahan warna. Adapun reaksi warna yang terjadi berupa warna jingga, sehingga dapat dikatakan positif (+) flavonoid. Penambahan logam Mg dan HCl pekat berfungsi untuk mereduksi inti benzopiron yang terdapat pada struktur flavonoid sehingga terbentuk warna merah atau jingga (Setyowati, 2014).

Kemudian sampel uji tersebut diekstraksi untuk mendapatkan atau menarik kandungan kimia yang terdapat pada serbuk bunga cengkeh. Metode ekstraksi yang digunakan adalah metode maserasi dengan cairan penyari yaitu Etanol 70%. Metode maserasi dipilih dikarenakan metode ini menggunakan peralatan yang sederhana sehingga mudah dilakukan (Depkes RI, 2000) menghasilkan rendemen yang cukup tinggi (Sundari, 2010). Adapun proses maserasi dari serbuk bunga cengkeh dilakukan dengan cara merendam simplisia dalam cairan penyari dan beberapa kali dilakukan

pengadukan atau pengocokan untuk mempercepat proses penyarian. Proses ekstraksi ini dilakukan selama 24 jam karena semakin lama waktu ekstraksi, kesempatan untuk bersentuhan semakin besar sehingga hasilnya juga bertambah sampai titik jenuh larutan. Proses ekstraksi tidak menggunakan cara panas seperti refluks atau panas dingin seperti soklet karena dikhawatirkan ada golongan senyawa yang tidak tahan terhadap pemanasan seperti flavonoid yang mudah teroksidasi pada suhu tinggi (Koirewoa, 2012). Menurut Sundari (2010) kemungkinan rusaknya senyawa kimia yang terkandung di dalam suatu bahan alam dapat dihindari karena tidak disertai pemberian panas.

Setelah 24 jam dilakukan perendaman terhadap serbuk bunga cengkeh (*Syzygium aromaticum*), dilakukan penyaringan untuk memperoleh filtratnya sedangkan sisa ampas diremaserasi dengan menggunakan pelarut yang sama. Proses remaserasi dilakukan untuk mendapatkan filtrat yang warnanya sedikit pucat dari filtrat sebelumnya, hal ini menandakan bahwa simplisia terekstraksi maksimal. Untuk meningkatkan keefektifan penyarian, maka digunakan campuran pelarut yang berlainan seperti etanol dan air. Etanol 70% sangat efektif dimana bahan pengganggu hanya skala kecil yang turut

kedalam cairan pengestraksi sehingga menghasilkan jumlah bahan aktif yang optimal (Voight, 1994). Selain itu etanol 70% digunakan sebagai cairan penyari karena mempunyai keuntungan seperti aman dan tidak bersifat toksik. Pelarut etanol 70% bersifat polar karena terdiri dari campuran air dan etanol sehingga senyawa ada yang tertarik oleh etanol dan ada yang tertarik air. Etanol merupakan pelarut serba guna yang sangat baik untuk ekstraksi pendahuluan karena dapat mengekstraksi senyawa polar dan nonpolar (Harborne, 1987).

Filtrat yang diperoleh dari hasil ekstraksi kemudian diuapkan untuk menghilangkan pelarut yang ada pada filtrat bunga cengkeh (*Syzygium aromaticum*) sehingga mendapatkan ekstrak yang kental dan pekat. Ekstrak kental yang diperoleh ditimbang kemudian dibandingkan bobotnya dengan bobot simplisia awal. Adapun persen perbandingan antara bobot ekstrak yang dihasilkan dengan bobot simplisia awal menyatakan nilai rendemen. Dari 400 gram serbuk bunga cengkeh (*Syzygium aromaticum*) yang dimaserasi, didapatkan ekstrak kental sebesar 42 gram sehingga hasil perhitungan rendemen ekstrak bunga cengkeh (*Syzygium aromaticum*) didapatkan hasil sebesar 10,5% (**Lampiran 2**). Persentase ini masuk dalam range persen rendemen yang

dipersyaratkan yakni 10%-15% yang menunjukkan bahwa proses ekstraksi berlangsung sempurna (Dirjen POM, 2000) dalam Vitasari (2013). Hasil rendemen yang diperoleh dapat digunakan untuk menentukan dosis yang akan digunakan pada uji toksisitas akut.

Pada penelitian ini hewan percobaan yang digunakan yaitu mencit putih jantan (*Mus musculus*). Mencit dipilih karena mempertimbangkan ukurannya yang kecil, mudah dalam pemeliharaan dan perawatan. Mencit jantan tidak dipengaruhi siklus estrus yang dapat menimbulkan aktivitas hormon yang tidak stabil yang nantinya akan berpengaruh pada proses pengamatan (Lu, 1995).

Mencit yang digunakan terlebih dahulu diaklimatisasi selama 10 hari pada suhu ruangan agar mencit dapat beradaptasi dengan lingkungan barunya. Setiap harinya kandang mencit dibersihkan dan diganti sekamnya. Selain itu, mencit diberi makan jagung dan minum (*ad libitum*) sehari 2 kali yaitu pagi dan sore. Kriteria mencit yang digunakan yaitu mencit dewasa dengan kisaran umur 2-3 bulan dan memiliki berat 20-30 gram.

Pada pengujian ini pemberian dilakukan secara oral dengan menggunakan sonde. Rute ini disesuaikan dengan kebiasaan masyarakat dalam mengonsumsi bunga cengkeh (*Syzygium aromaticum*). Dalam penetapan dosis,

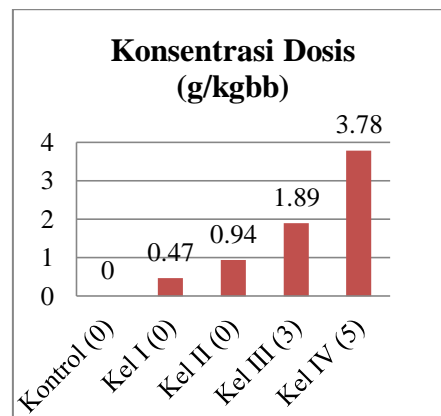
terlebih dahulu dilakukan uji pendahuluan pada dosis serbuk 2000 mg/kg. Dosis yang digunakan berdasarkan penelitian sebelumnya bahwa serbuk bunga cengkeh yang diberikan peroral tidak menyebabkan efek toksik pada dosis tertinggi yaitu 2000 mg/kg (Milind dan Deepa, 2011). Namun, dosis 2000 mg/kg tersebut masih dalam bentuk serbuk sehingga terlebih dahulu dikonversi dalam dosis ekstrak dan didapatkan dosisnya 0,21 g/kgbb.

Setelah mencit diaklimatisasi, dipilih mencit sebanyak 23 ekor yang memenuhi kriteria berat 20-30 gram kemudian dibagi menjadi lima kelompok perlakuan dan setiap kelompok mempunyai rata-rata berat yang hampir sama. Adapun pada kelompok pertama yaitu sebanyak 3 mencit diberikan aquadest sebagai kelompok kontrol dan empat kelompok tingkatan dosis yang masing-masing sebanyak 5 mencit diberikan ekstrak bunga cengkeh (*Syzygium aromaticum*) yang dilarutkan menggunakan aquadest.

Sebelum dilakukan uji toksisitas, terlebih dahulu dilakukan uji pendahuluan dengan mengelompokkan mencit menjadi 4 kelompok yang masing-masing kelompok terdiri dari 2 mencit. Adapun pada kelompok I diberikan dosis 0,21 g/kgbb dengan kelipatan dosisnya sebesar 3 sehingga dosis pada kelompok II, III, IV masing-masing adalah 0,63 g/kgbb, 1,89 g/kgbb, dan 5,67 g/kgbb (**Lampiran 5**).

Hasil yang diperoleh dari uji pendahuluan yaitu; pada Dosis I tidak terdapat kematian (0%), dosis II 0%, dosis III 50% (dengan 1 mencit mati), dan dosis IV 100% (2 mencit mati).

Dari hasil uji pendahuluan, rentan dosis yang akan digunakan pada uji toksisitas adalah 0,4 g/kgbb sampai 4,3 g/kgbb. Maka diambil keputusan penggunaan dosis terendah yaitu sebesar 0,47 g/kgbb sedangkan untuk dosis selanjutnya ditentukan dengan menggunakan kelipatan 2, sehingga didapatkan tingkatan dosis selanjutnya yaitu 0,94 g/kgbb, 1,89 g/kgbb dan 3,78 g/kgbb.



Gambar 4.2 Grafik Konsentrasi Dosis Uji Toksisitas Akut

Diperoleh hasil dari uji toksisitas yaitu pada kelompok I setelah pemberian ekstrak bunga cengkeh (*Syzygium aromaticum*) tidak terdapat kematian dan mencit beraktifitas sebagaimana biasa. Dari hasil ini dapat disimpulkan bahwa dosis 0,47 g/kgbb tidak toksik ataupun tidak menimbulkan gejala toksik.

Pada kelompok II diberikan dosis 0,94 g/kgbb tidak terdapat mencit yang mati, namun diperoleh hasil pengamatan klinis yaitu pada mencit 1 setelah diberikan ekstrak bunga cengkeh (*Syzygium aromaticum*) dengan volume pemberian 0,71 mL tidak terdapat gejala toksik dan mencit beraktifitas sebagaimana biasa. Mencit 2 dengan volume pemberian 0,70 mL terjadi tremor pada beberapa detik setelah pemberian ekstrak yang ditandai dengan otot berkedut dan menunjukkan gerakan kulit yang cepat (OECD, 2000). Sejahtunya pada mencit 3 dengan volume pemberian 0,69 mL memperlihatkan tanda-tanda gejala klinis seperti gelisah, detak jantung cepat, bulu berdiri. Gejala seperti detak jantung cepat dapat disebabkan mencit panik/cemas segera setelah diberikan perlakuan sehingga gejala ini belum dapat disimpulkan sebagai akibat dari pemberian ekstrak bunga cengkeh (*Syzygium aromaticum*) selain itu, 5 menit setelah pemberian ekstrak bunga cengkeh (*Syzygium aromaticum*) mencit kembali beraktifitas sebagaimana biasa. Mencit 4 dengan volume pemberian 0,68 mL tercatat beberapa gejala klinis yang sama seperti pada mencit 3 seperti bingung dan gelisah namun 5 menit setelah pemberian ekstrak bunga cengkeh (*Syzygium aromaticum*) mencit beraktifitas sebagaimana biasa. Pada mencit 5 dengan

volume pemberian 0,68 mL tidak memperlihatkan adanya gejala toksik serta beraktifitas sebagaimana biasa.

Pada kelompok III diberikan dosis 1,89 g/kgbb mulai terlihat adanya tanda-tanda kematian mencit. Pada mencit 1 dengan volume pemberian 0,80 mL terlihat gelisah segera setelah diberikan ekstrak bunga cengkeh (*Syzygium aromaticum*). Pada menit ke 9 mulai terlihat ketidaknormalan seperti jantung berdebar kencang serta kaki belakang menjadi lemas dan sedikit lumpuh. Kemungkinan penyebab kelumpuhan pada kaki mencit ini yaitu berhubungan dengan sistem saraf yang mengendalikan gerakan mengalami kerusakan sehingga terjadi kegagalan saat mengendalikan otot-otot pada kaki. Tercatat pada menit ke 24 mencit mengalami kematian sehingga dapat disimpulkan dosis 1,89 g/kgbb sudah dapat menimbulkan efek kematian, namun masih dilihat pada mencit yang selanjutnya. Pada mencit 2 dengan volume pemberian 0,80 mL tidak mengalami kematian, hanya saja terjadi gejala berupa jantung yang berdebar kencang namun setelah beberapa menit mencit beraktifitas sebagaimana biasa. Pada mencit 3 dengan volume pemberian 0,73 mL mengalami lemas, kaki belakang menjadi lumpuh dan lemas. Gejala ini bisa terjadi karena adanya gangguan pada sistem saraf yang mengendalikan gerakan seperti tangan dan

kaki mengalami kegagalan dalam mengendalikan otot-otot sehingga mencit menjadi lumpuh. Setelah 10 menit mengalami kelumpuhan dan kurangnya aktifitas, mencit 3 mengalami kematian sehingga dapat disimpulkan kematian mencit diakibatkan pemberian ekstrak bunga cengkeh (*Syzygium aromaticum*). Pada cengkeh terdapat kandungan flavonoid sehingga dapat diperkirakan menjadi penyebab mengganggu sistem saraf. Menurut Sandhar (2011), flavonoid mempunyai cara kerja mengganggu sistem saraf. Pada mencit 4 dengan volume pemberian 0,73 mL mengalami kematian pada 30 menit setelah pemberian ekstrak namun sebelum mencit mati tercatat terjadi gejala toksik berupa kejang-kejang dan jantung berdebar kencang. Konvulsi atau kejang-kejang ditandai dengan otot tubuh mengalami fluktuasi kontraksi dan peregangan dengan sangat cepat sehingga menyebabkan gerakan mencit yang tidak terkendali. Hal ini dikarenakan dosis yang sudah dikategorikan mempunyai efek toksik. Pada mencit 5 dengan volume pemberian 0,73 mL mencit tidak mengalami kematian namun mengalami gelisah serta terjadi gejala toksik awal seperti lemas. Setelah 15 menit setelah pemberian ekstrak bunga cengkeh (*Syzygium aromaticum*) mencit beraktivitas sebagaimana biasa.

Pada kelompok IV dengan dosis 3,78 g/kgbb dengan rata-rata volume pemberian sebanyak 0,86 mL semua mencit mengalami kematian dengan beberapa gejala toksik seperti pada mencit 1 lemas, terjadi penurunan aktifitas, nafas melambat. Mencit 2 terjadi gejala toksik seperti lemas, terjadi penurunan aktifitas, nafas setengah-setengah. Mencit 3 terjadi gejala toksik berupa lemas, terjadi penurunan aktifitas dan nafas melambat. Mencit 4 juga terlihat beberapa gejala toksik seperti lemas, terjadi penurunan aktifitas, nafas melambat dan pada mencit 5 juga terjadi gejala toksik seperti nafas melambat, terjadi penurunan aktifitas dan nafas setengah-setengah. Semua mencit mengalami kematian pada menit 10-30 menit setelah pemberian ekstrak sehingga dapat disimpulkan dosis IV merupakan dosis yang berbahaya karena dapat membunuh mencit dalam kurung waktu yang cepat.

Menurut Marlinda dkk (2012), senyawa aktif yang terdapat dalam tanaman obat hampir selalu toksik apabila diberikan dalam dosis tinggi. Semua keracunan terjadi akibat reaksi antara zat beracun dengan reseptor dalam tubuh (Katzung, 2002). Pemberian oral ekstrak etanol bunga cengkeh menyebabkan zat aktif yang terdapat dalam ekstrak bunga cengkeh terabsorpsi dalam saluran pencernaan kemudian mengalami proses

distribusi dan metabolisme. Produk metabolisme yang bersifat toksik bekerja sebagai inhibitor enzim untuk tahap metabolisme selanjutnya. Reaksi antara zat aktif dengan reseptor dalam organ efektor menyebabkan timbulnya gejala keracunan (Donatus, 1998).

Dari hasil pengamatan dapat disimpulkan bahwa pada dosis I mencit tidak mengalami kematian (0%), pada dosis II (0%) pada dosis III mengalami kematian sebanyak 3 mencit dari jumlah mencit sebanyak 5 dengan persentase kematian 60% sedangkan pada dosis IV semua mencit mengalami kematian sehingga persentase kematian yaitu 100% sehingga urutan kematian pada uji toksisitas akut yaitu 0,0,3,5. Berdasarkan tabel weil harga r 0,0,3,5 mempunyai nilai f (*factor*) yaitu 0,90000. Kemudian dianalisis data kematian berdasarkan tabel weil sehingga nilai LD_{50} dari ekstrak bunga Cengkeh (*Syzygium aromaticum*) didapatkan 1,75 g/kg.bb dimana berdasarkan derajat ketoksikan termasuk pada kategori sedikit toksik dengan nilai rentang LD_{50} yaitu sebesar 1,2 g/kgbb – 2,4 g/kgbb (Thompson and Weil, 1952).

5. PENUTUP

Kesimpulan

Nilai LD_{50} hasil pengujian toksisitas akut ekstrak bunga Cengkeh (*Syzygium*

aromaticum) sebesar 1,75 g/kg.bb dan termasuk ke dalam kategori sedikit toksik. Pemberian bahan uji ekstrak menimbulkan gejala toksik berupa aktifitas jantung menurun, kejang-kejang, terjadi penurunan aktifitas gerak, nafas melambat, tremor.

6. DAFTAR PUSTAKA

Agoes. G. 2007. *Teknologi Bahan Alam*, ITB Press: Bandung.

Angelina Marissa, Hartati S, Indah D. Dewijanti, Sofna D.S. Banjarnahor, dan Lia Meilawati, 2008. *Penentuan LD_{50} Daun Cinco (Cyclea barbatamiers.) Pada Mencit*. Pusat Penelitian Kimia, Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI), Kawasan Puspiptek, Tangerang 15314, Indonesia.

Badan POM, 2014. *Peraturan Kepala Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia Nomor 7 Tahun 2014 Tentang Pedoman Uji Toksisitas Nonklinik secara in vivo*. Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia: Jakarta.

Barile F. 2005. *Clinical Toxicology: principles and mechanism*. Crs press: Washington DC.

Bhowmik D, dkk. 2012. *Journal of Pharmacolognosy and Phytochemistry: Recent Trend in Indian Tradisional Herbs Syzygium Aromaticum and its Health Benefits*. Department of Pharmaceutical Sciences, Karpagam University: India.

- Bulan, R. 2004. *Reaksi Asetilasi Eugenol dan Oksidasi Metil Iso Eugenol*. Program Studi Teknik Kimia, FMIPA: Universitas Sumatera Utara.
- Departemen Kesehatan RI, 1979. *Farmakope Indonesia Edisi III*. Direktorat Jendral Pengawas Obat dan Makanan: Jakarta.
- Departemen Kesehatan RI, 1989. *Materia Medika Indonesia Jilid V*. Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan: Jakarta.
- Departemen Kesehatan RI, 1999. *Cara Pengelolaan Simplisia Yang Baik*. Direktorat Jendral Pengawasan Obat dan Makanan: Jakarta.
- Departemen Kesehatan RI. 2000. *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*. Direktorat Jendral Pengawasan Obat dan Makanan: Jakarta.
- Departemen Kesehatan RI, 2000. *Pedoman Pelaksanaan Uji Klinik Obat Tradisional*. Direktorat Pengawasan Obat Tradisional: Jakarta.
- Donatus I.A., 1998. *Toksikologi Dasar*. Fakultas Farmasi, Universitas Gadjah Mada: Yogyakarta.
- Donatus, I.A., 2005, *Toksikologi Dasar Edisi 2*. Rasmedia Grafika. Fakultas Farmasi, Universitas Gadjah Mada: Yogyakarta.
- Fadli, Muhammad Yogie, 2015. *Uji Toksisitas Ekstrak Etanol Daun Sambung Nyawa (gynura procumbens (lour.) merr) Terhadap Gambaran Histopatologi Lambung Pada Tikus Galur Sprague dawley*. Fakultas Kedokteran Universitas Lampung.
- Faridha Yenny Nonci, Muh. Rusdi, Isrul Zul Fajrin La Mohan L, 2014. *Uji Toksisitas Akut Ekstrak Etanol Klika Jambu Mede (Anacardium occidentale l.) Pada Mencit Jantan (Mus musculus)*. Jurusan Farmasi Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Islam Negeri Alauddin Makassar.
- Francisco D., Fernandes R.C., Oliveira P, 2014. *Clove (Syzygium Aromaticum): A Precious Spice*. Laboratory of R&D on Pharmaceutical Processes: Brazil.
- Harborne, J. B. 1987. *Metode Fitokimia, Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*. Terjemahan K. Padmawinata dan I. Soediro. ITB, Bandung.
- Hasim F, Batubara I And Suparto Irma H, 2016. *The Potency Of Clove (Syzygium aromaticum) Essential Oil As Slimming Aromatherapy By In Vivo Assay*. International Journal of Pharma and Bio Sciences. Bogor Agricultural University, Bogor: Indonesia.
- Hedrich, J. H., J. Baker, R. Lindsay, & S.H. weisbroth. 2006. *The Laboratory rat*. Elsevier Ind., Oxford.
- Hendriani, R. 2007. *Uji Toksisitas Subkronis Kombinasi Ekstrak Etanol Buah Mengkudu (Morinda citrifolia linn.) dan Rimpang Jahe Gajah (Zingiber Officinale rosc.) Pada Tikus Wistar*. Karya Ilmiah yang Tidak Dipublikasikan. Fakultas Farmasi Universitas Padjadjaran.

- Hodgson, E., Levi P.E. 2000. *A Textbook of Modern Toxicology 2nd Ed.* McGraw-Hill Higher Education: Singapore.
- Indriyati Wiwiek dkk, 2016. *Uji Toksisitas Akut Ekstrak Etanol Benalu Mangga (Dendrophthoe petandra) Terhadap Mencit Swiss Webster.* Laboratorium Farmakologi dan Toksikologi Fakultas Farmasi, Universitas Padjadjaran, Sumedang, Jawa Barat.
- Jenova Rika, 2009. *Uji Toksisitas Akut Yang Diukur Dengan Penentuan LD50 Ekstrak Herba Putri Malu (Mimosa pudica l.) Terhadap Mencit balb/c.* Laporan Akhir Penelitian Karya Tulis Ilmiah. Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro. Semarang.
- Katzung BG. 2002. *Farmakologi Dasar dan Klinik.* Sjabana D, Isbadianti SE, Basori A, Soedjak NM, uno I, Rhamadani, Zakaria PS, penerjemah dan penyunting. Jakarta Salemba Medika. Terjemahan dari: Basic dan Clinical Pharmacology Ed ke-8.
- Kim, H. M., Lee, E. H., Hong, S. H., Song, H. J., Shin, M. K., Kim, S. H., & Shin, T. Y. (1998). *Effect of Syzygium aromaticum extract on immediate hypersensitivity in rats.* Journal of Ethnopharmacology. Wonkwang University and Woosuk University: South Korea.
- Koirewoa Y. A, Fatimawali, Wiyono W. I., 2012. *Isolasi Dan Identifikasi Senyawa Flavonoid Dalam Daun Beluntas (Pluchea Indica L.).* Program Studi Farmasi FMIPA UNSRAT: Manado.
- Lee Kwang-Geun and Shibamoto Takayuki, 2001. *Antioxidant Property Of Aroma Extract Isolated From Clove Buds [Syzygium Aromaticum (L.) Merr. Et Perry].* Department Of Environmental Toxicology, University Of California.
- Leela, N. K., and Sapna, V. P. (2008). *Clove.* In: Parthasarathy, V.A., Chempakam, B., Zachariah, T.J. (Eds). Chemistry of spices. CAB International, Cambridge, USA.
- Loomis T.A, 1987. *Essential Toxicology 3rd.* Lea & Febiger: Philadelphia.
- Loomis, T.A and A.W. Hayes, 1996. *Loomis's Essential Toxicology 4nd ed.* California Press.
- Lu, F C., 1995, *Toksikologi Dasar Asas, Organ Sasaran dan Penilaian Risiko,* (Alih bahasa: Edi Nugroho). Edisi kedua. UI Press: Jakarta.
- Mansur, 2008. *Toksikologi dan Distribusi agent Toksik Edisi 2.* UI Press: Jakarta.
- Marliana, S.D, Suryanti, V, dan Suyono. 2005. *Skrining Fitokimia dan Analisis Kromatografi Lapis Tipis Komponen Kimia Buah Labu Siam (Sechium edule Jacq.Swartz.) dalam Ekstrak Etanol.* Biofarmasi 2(1) 26-31, Februari 2005, ISSN: 1693-2242. Jurusan Biologi FMIPA UNS Surakarta.
- Marlinda M, Sangi MS, Wuntu AD. 2012. *Analisis senyawa metabolit sekunder dan uji toksisitas ekstrak etanol biji buah alpukat (Persea americana Mill).* Jurnal MIPA UNSRAT.

- Meles K.D, 2010. *Peran Uji Praklinik Dalam Bidang Farmakologi*. Pusat Penerbitan dan Percetakan Unair (AUP). Perpustakaan Universitas Airlangga: Surabaya.
- Milind Parle and Deepa Khanna, 2011. *Clove: A Champion Spice*. Guru Jambheshwar University of Science and Tehcnology: India.
- Milind Parle and Deepa Khanna, 2011. *Pro-Cholinergic, Hypo-Cholesterolemic and Memory Improving Effect of Clove*. Guru Jambheshwar University of Science and Tehcnology: India.
- Muhtadi, Andi Suhendi, Agus Triyono dan Agus Ulinuha, 2015. *Introduksi Teknologi Tepat Guna Untuk Perbaikan Proses Produksi Dan Pengembangan Usaha Jamu Herbal Di Cv. Arba'in Jaya Mandiri Surakarta*. Fakultas Farmasi, Universitas Muhammadiyah Surakarta: Surakarta.
- Mukhriani, 2014. *Ekstraksi, Pemisahan Senyawa, dan Identifikasi Senyawa Aktif*. Program Studi Farmasi Fakultas Ilmu Kesehatan UIN Alauddin: Makassar.
- Mutschler E. 1991. *Dinamika Obat Ed ke-5*. Mathilda B, Widiyanto, Penerjemah. Terjemahan dari Arzneimittel wirkungen 5 Vollig neurbear beite und ewwiterbeauflage. Penerbit ITB: Bandung.
- Naini amiyatun, 2004. *Uji Toksisistas Akut Ekstrak Daun Psidium Guava Linn (Daun Jambu Biji) Terhadap Mencit (Mus musculus)*. Bagian prostodonsia. Fakultas Kedokteran Gigi. Universitas Jember.
- Nassar Mahmoud *et al*, 2017. *Chemical Constituents of Clove (Syzygium aromaticum, fam. Myrtaceae) and their antioxidant activity*. National Research Centre, Cairo: Egypt.
- Nurdjannah, Nanan. 2004. *Diversifikasi Penggunaan Cengkeh*. Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Pasca Panen Pertanian Indonesian Center for Agricultural Postharvest Research and Development: Bogor.
- OECD, 1981. *Acute Oral Toxicity. Guidline for testing of chemicals*.
- OECD, 2000. *OECD Series on Testing and assessment No.24. Guidance Document on Acute Oral Toxicity Testing*. Paris: OECD Environment Directorate, Environment, Health and Safety Division.
- Porter William, 2000. *Rats and Mice: Introduction and Use in Research*. USA : Washington University.
- Prasetyo, 2013. *Pengelolaan Budidaya Tanaman Obat-Obatan (Bahan Simplisia)*. Badan Penerbitan Fakultas Pertanian UNIB: Bengkulu.
- Priya. K Bhanu, Kotakadi Venkata S And Josthna. P, 2013. *Antimutagenic Activity Of Syzygium Aromaticum extract In Mice Using Bone Marrow Micronucleus Test*. Tirupati: India.
- Radji, M & Harmita. 2004. *Buku Ajar Analisis Hayati*. Departemen Farmasi FMIPA UI: Depok.

- Radji, M & Harmita. 2008. *Buku Ajar Analisis Hayati Edisi 3*. Departemen Farmasi FMIPA UI: Depok.
- Seidemann. 2005. *World Spice Plants Economic, Usage, Botany Taxonomy*. Springer-Verlag Berlin Heidelberg: New York.
- Setyowati dkk, 2014. *Skrining Fitokimia dan Identifikasi Komponen Utama Ekstrak Metanol Kulit Durian (Durio zibethinur Murr.) Varietas Petruk*. Kimia Organik Bahan Alam. Prodi Pendidikan Kimia, Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan. Universitas Sebelas Maret Surakarta: Indonesia.
- Sandhar Harleen Kaur, Bimlesh Kumar, Sunil Prasher, Prashant Tiwari, Manoj Salhan, Pardeep Sharma, 2011. *A Review of Phytochemistry and Pharmacology of Flavonoids*. International Pharmaceutic Scientia. Lovely School of Pharmaceutical Sciences, Lovely Professional University, Jalandhar-Delhi G.T. Road (NH-1), Phagwara. Punjab: India.
- Shukri Radhiah, Mohamed Suhaila, Mustapha Noordin Mohamed, 2010. *Cloves Protect The Heart, Liver And Lens Of Diabetic Rats*. Universiti Putra Malaysia, Selangor: Malaysia.
- Sundari Ida, 2010. *Identifikasi Senyawa Dalam Ekstrak Etanol Biji Buah Merah (Pandanus Conoideus Lamk.)*. Skripsi. Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Sebelas Maret Surakarta: Surakarta.
- Sutarno, 2015. *Biodiversitas Indonesia: Penurunan dan upaya pengelolaan untuk menjamin kemandirian bangsa*. Jurusan Biologi, FMIPA, Universitas Sebelas Maret. Surakarta.
- Syam aswin khaliq, 2016. *Uji Toksisitas Akut Ekstrak Etanol Daun Kayu Hitam (Diospyros celebica B.) Terhadap Mencit (Mus musculus)*. Skripsi. Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan. Universitas Islam Negeri Alauddin Makassar: Samata Goa.
- Thomas A.N.S, 2007. *Tanaman Obat Tradisional 2*. Kanisius: Yogyakarta.
- Thompson dan Weil CS. 1952. *Tables for Convenient Calculation of Median Effective Dose (LD50 or ED50) And Instructions in Their Use*. Biometrics 8:249-263.
- Tjitrosoepomo, 2005. *Taksonomi Tumbuhan Obat-Obatan*. Universitas Gadjah Mada Press: Yogyakarta.
- Towaha J. 2012. *Manfaat Eugenol Cengkeh dalam Berbagai Industri Di Indonesia*. Balai Penelitian Tanaman Industri dan Penyegar: Jawa Barat.
- Utami dan Puspaningtyas, 2013. *The Miracle of Herbs*. PT Agromedia Pustaka: Jakarta.
- Vijayasteltar Liju, Nairb Gopakumar G, Maliakelb Balu, Kuttan Ramadasan, Krishnakumar, 2016. *Safety Assessment Of A Standardized Polyphenolic Extract Of Clove Buds: Subchronic Toxicity And Mutagenicity Studies*. Amala Cancer

Research Centre, Amala Nagar PO,
Trichur 680555: India.

Vitasari, E W. 2013. *Antihiperlipidemia Ekstrak Etanol Batang Kayu Kuning (Arcangelisia flafa (L.) Merr.) Terhadap Tius Putih Galur Wistar Yang Diinduksi Pakan Tinggi Lemak. Skripsi. Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi "Yayasan Farmasi". Semarang.*

Voight, T. 1994. *Pelajaran Teknologi Farmasi. Gadjah Mada University Press: Fakultas Farmasi, Universitas Gadjah Mada: Yogyakarta.*

Wirasuta I Made Agus G dan Niruri Rasmaya, 2016. *Toksikologi Umum. Buku Ajar. Jurusan Farmasi Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam: Universitas Udayana.*

Wiryowidagdo, 2005. *Kimia & Farmakologi Bahan Alam Edisi 2. Buku Kedokteran EGC: Jakarta.*