



RESEARCH ARTICLE

UJI TOKSISITAS AKUT DAN ALERGI EKSTRAK DAUN PEGAGAN (*Centella asiatica*) TERHADAP MENCIT (*Mus musculus*)

Hendri Poernomo¹, Mochammad Taha Ma'ruf², Luh Gede Pradnyani³

Bagian Bedah Mulut, Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Mahasaraswati Denpasar

Email: pradnyanii01@gmail.com

ABSTRAK

Pegagan (*Centella asiatica*) merupakan jenis tanaman yang sering digunakan sebagai obat tradisional oleh masyarakat di Bali. Khasiat yang dimiliki tanaman ini yaitu dapat mempercepat penyembuhan luka, radang reumatik, asma, wasir, disentri, demam, dan sebagai penambah darah. Penggunaan tanaman sebagai bahan baku obat semakin meningkat, sehingga diperlukan penelitian untuk membuktikan keamanan tanaman obat tersebut. Uji keamanan yang dilakukan yaitu uji toksisitas akut untuk mendeteksi efek toksik dari suatu zat pada sistem biologi dan untuk memperoleh data respon yang khas dari sediaan uji, *Lethal Dose 50* dan klasifikasi ketoksikan serta uji alergi untuk mengetahui adanya reaksi alergi yang timbul pada mencit, selain itu pada penelitian ini juga dilakukan pengamatan mikroskopik untuk melihat histopatologi pada hati mencit. Mencit akan dikelompokkan menjadi 5 kelompok dan setiap kelompok terdiri dari 5 ekor mencit yang terdiri dari 1 kelompok kontrol dan 4 kelompok perlakuan. Kelompok perlakuan diberikan ekstrak daun pegagan secara oral dan dilakukan pengamatan selama 14 hari. Penelitian ini menggunakan OECD 425 sehingga dari hasil penelitian uji toksisitas akut, diperoleh nilai LD₅₀ adalah 12,5gr/kg BB (toksik ringan), pada pengamatan secara mikroskopis pada kelompok kontrol tidak terdapat kerusakan pada hati, sedangkan pada kelompok perlakuan terjadi perubahan berupa kerusakan hati. Untuk toksisitas akut, bobot mencit setelah diberikan ekstrak daun pegagan diuji menggunakan pengujian *Shapiro Wilk* dan *Kruskal Wallis*. Dari hasil analisis tidak terdapat perbedaan bermakna.

Kata Kunci: Daun pegagan (*Centella asiatica*), Toksisitas akut, Uji alergi, LD₅₀



PENDAHULUAN

Luka merupakan suatu bentuk kerusakan sebagian jaringan karena terdapat faktor yang mengganggu sistem perlindungan tubuh. Pengobatan luka yang optimal sangat diperlukan untuk mencapai kesembuhan, menghindari gangguan dan masalah yang nantinya mengakibatkan pada produktivitas kerja¹.

Tumbuhan tradisional sebagai bahan dasar obat herbal sering digunakan karena efek samping yang dihasilkan hampir tidak ada dibandingkan obat yang berbahan dasar kimia². Salah satu tumbuhan tradisional yang khasiatnya untuk menyembuhkan luka yaitu daun pegagan dengan nama latin *Centella asiatica*³. Pemberian ekstrak daun pegagan berpotensi untuk mengecilkan diameter luka, meningkatkan jumlah fibroblas, menginduksi proses angiogenesis pada penyembuhan luka setelah pencabutan gigi, dan memiliki kemampuan reepitelisasi yang baik^{4,5,6,7}.

Obat herbal yang nantinya akan terus digunakan memerlukan suatu penelitian khasiat, keamanan melindungi konsumen dari efek yang berbahaya serta ketiadaan efek toksik⁸. Pengujian toksisitas ditujukan untuk memperkirakan efek yang timbul setelah pemberian suatu zat⁹. Salah satu uji toksisitas yang dapat dilakukan untuk menguji keamanan suatu zat yaitu uji toksisitas akut yang merupakan percobaan yang dilakukan dengan memberikan zat kimia yang akan diuji pada hewan coba sebanyak satu kali atau beberapa kali dalam rentang waktu 24 jam¹⁰. Reaksi alergi atau yang dikenal juga dengan istilah reaksi hipersensitivitas juga perlu dilakukan pengujian. Alergi terjadi karena tubuh memberikan respon berlebih terhadap adanya allergen¹¹.

Pada penelitian ini akan dilakukan pengujian terhadap mencit (*Mus musculus*) mengenai uji keamanan yaitu uji toksisitas akut dan uji alergi. Setelah dilakukan pengujian tersebut, maka diharapkan dapat memperoleh batas aman penggunaan suatu bahan agar tidak terjadi efek toksik maupun alergi yang merugikan.

METODE

Rancangan Penelitian

Penelitian ini menggunakan metode eksperimental laboratoris *in vivo* dengan metode *quasi experimental* dan *post test-Only Control Group Design*, serta Rancangan Acak

Lengkap (RAL) digunakan untuk pengelompokan sampel. Penelitian ini mengukur kisaran nilai LD₅₀ dengan menggunakan metode Karber. Metode penelitian yang digunakan dalam uji toksisitas akut yaitu *Organization for Economic Co-operation and Development* (OECD) 425 *fixed dose procedure* yang dalam pengujiannya memiliki dua jenis perlakuan yaitu uji pendahuluan dan uji utama (*main test*). Dosis uji utama diawali dari 5000mg/kg BB dan dosis selanjutnya ditingkatkan sebesar 2500mg/kg BB.

Sampel

Jumlah hewan coba yang diperlukan yaitu sebanyak 5 ekor pada setiap kelompok. Kelompok penelitian terdiri dari 4 kelompok perlakuan dan 1 kelompok kontrol, sehingga jumlah mencit yang dibutuhkan secara keseluruhan yaitu sebanyak 25 ekor.

Analisis Data

Analisis deskriptif untuk memberikan deskripsi atau gambaran mengenai toksisitas dan alergi berdasarkan data variabel yang telah diperoleh. serta uji *Shapiro Wilk* dan *Kruskal-Wallis Test*

HASIL

Uji Skrining Fitokimia dan Uji Spektrofotometri

Senyawa yang Diidentifikasi	Parameter	Metode	Hasil
Alkaloid	Endapan merah bata	<i>Dragendorff</i>	-
Flavonoid	Warna Kuning	Mg + Hcl	+
Tannin	Endapan hijau kehitaman	FeCl ₃	+
Steroid/ Triterpenoid	Endapan warna hijau (steroid) dan merah (triterpenoid)	<i>Liebermann Burchard</i>	+ (Steroid)
Saponin	Terbentuk buih	Kocok Vertikal	-

Tabel 1. Hasil Uji Fitokimia Ekstrak Daun Pegagan

Hasil uji skrining fitokimia menunjukkan bahwa ekstrak daun pegagan (*Centella asiatica*) memiliki kandungan berupa flavonoid, tannin, dan steroid.

Senyawa yang Diidentifikasi	Metode	Konsentrasi (WL.431nm)
-----------------------------	--------	------------------------



Flavonoid	Spektrofotometri	1169,719 mgQE/ 100g
-----------	------------------	---------------------

Tabel 2. Hasil Uji Spektrofotometri Ekstrak Daun Pegagan

Hasil uji kuantitatif kandungan flavonoid pada ekstrak daun pegagan dengan menggunakan metode spektrofotometri memiliki konsentrasi sebesar 1169,719 mgQE/100g.

Uji Toksisitas Akut dan Alergi

Kelompok	Jumlah Kematian Mencit Hari	
	Pertama	
K	-	
P1	-	
P2	-	
P3	-	
P4	+	

Tabel 3. Hasil Pengamatan Gejala Toksik pada Mencit

Keterangan:

- K : Kelompok kontrol dengan CMC-Na
- P1 : Kelompok perlakuan 1 dengan dosis 5000 mg/ kg BB mencit
- P2 : Kelompok perlakuan 2 dengan dosis 7500 mg/ kg BB mencit
- P3 : Kelompok perlakuan 3 dengan dosis 10.000 mg/ kg BB mencit
- P4 : Kelompok perlakuan 4 dengan dosis 12.500 mg/ kg BB mencit
- (+) : Mencit mengalami kematian
- (-) : Mencit tidak mengalami kematian

Hasil pengamatan mencit yang diberikan ekstrak daun pegagan yang dilakukan selama 14 hari, menunjukkan adanya kematian pada hari pertama.

Kelompok	Sebelum (g)	Sesudah (g)
K	21,78 ± 0,84380	24,50 ± 0,355
P1	21,60 ± 1,48829	22,77 ± 1,17813
P2	21,82 ± 1,20706	23,88 ± 1,92536
P3	21,84 ± 1,01143	24,54 ± 0,85615
P4	24,50 ± 0,59582	24,40 ± 0,74498

Tabel 4. Hasil Uji Fitokimia Ekstrak Daun Pegagan

Rerata berat setelah diberikan sediaan uji berat badan mencit tertinggi yaitu kelompok P3 sebesar 24,54 dan berat badan terendah yaitu kelompok P2 sebesar 23,88.

Uji Normalitas Data

Kelompok Perlakuan	Sesudah		
	Statistik	df	ρ



K	0,957	5	0,789
P1	0,964	5	0,836
P2	0,937	5	0,644
P3	0,921	5	0,535
P4	0,987	5	0,967

Tabel 5. Hasil Uji Normalitas pada Kelompok Sesudah Pemberian Ekstrak Daun Pegagan terhadap Mencit

Hasil pengujian menunjukkan data yang digunakan merupakan data berdistribusi normal, sehingga pengujian selanjutnya menggunakan uji homogenitas yaitu *Levene test*.

Uji Homogenitas Data

Variabel	<i>Levene Statistic</i>	df ₁	df ₂	ρ
Sesudah	3,918	4	20	0,017

Tabel 16 Hasil Uji Homogenitas Kelompok Sesudah Pemberian Ekstrak Daun Pegagan terhadap Mencit

Dari uji homogenitas, maka data berat badan mencit sesudah perlakuan antar kelompok memiliki varians yang tidak homogen, sehingga dilakukan pengujian non parametrik, yaitu uji Kruskal Wallis.

Uji Kruskal Wallis

	Sesudah
<i>Chi-Square</i>	0,427
df	4
ρ	0,980

Tabel 17. Hasil Uji Kruskal Wallis pada Kelompok Sesudah Pemberian Ekstrak Daun Pegagan terhadap Mencit

Berdasarkan tabel tersebut, dapat disimpulkan bahwa tidak terdapat perbedaan yang signifikan pada kelompok berat badan mencit sesudah diberikan ekstrak daun pegagan.

Hasil Pengamatan Gejala Klinis Uji Alergi

Eritema	Edema	Rerata Hasil Skoring
0	0	0

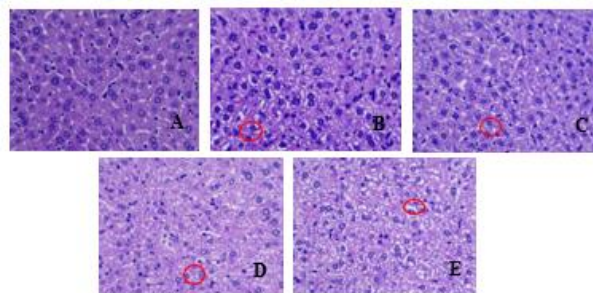
Tabel 18 Hasil Pengamatan Eritema dan Edema Setelah Pemberian Ekstrak Daun Pegagan terhadap Mencit

Hasil tidak ditemukan adanya eritema maupun edema pada lapisan dermal mencit.

Hasil Pengamatan Preparat Hati Mencit secara Mikroskopis

Kelompok Perlakuan	Rerata Skor Sampel
K	1,6
P1	2,2
P2	2,4
P3	3
P4	3

Tabel 19 Hasil Pengamatan Preparat Hati Mencit Secara Mikroskopis



Gambar 5. 3 Hasil pengamatan preparat hati mencit secara mikroskopis, (A) Kelompok kontrol tidak terjadi kerusakan pada hepar, (B) P1=5000 mg/ kg BB terjadi degenerasi parenkimatososa, (C) P2=7500 mg/ kg BB terjadi degenerasi parenkimatososa, (D) P3=10.000 mg/ kg BB terjadi degenerasi hidropik, (E) P4=12.500 mg/ kg BB terjadi degenerasi hidropik.

PEMBAHASAN

Penelitian ini menggunakan sediaan uji berupa ekstrak daun pegagan (*Centella asiatica*) dengan konsentrasi 25% dan dilakukan pengujian skrining fitokimia untuk mengidentifikasi kandungan senyawa yang terdapat di dalam ekstrak daun pegagan. Hasil yang diperoleh yaitu kandungan flavonoid, tanin, dan steroid, namun pada penelitian ini hanya didapatkan kandungan flavonoid, tannin, steroid/triterpenoid. Adanya perbedaan kandungan tersebut bisa disebabkan karena faktor geografis tanaman pegagan tumbuh, proses pembuatan ekstrak, pengaruh lingkungan tempat hidup tanaman pegagan, dan jenis uji skrining fitokimia yang digunakan¹².



Dosis yang dapat digunakan pada uji toksisitas utama dimulai dari 5000mg/kg BB sebagai dosis terendah dan aman yang digunakan pada uji toksisitas utama. Dalam waktu 24 jam, 1 ekor mencit yang mati yaitu pada dosis 12.500mg/kg BB, pengamatan tetap dilakukan selama 14 hari, namun hewan uji lainnya tidak memiliki gejala toksik maupun adanya kematian. Kematian mencit dapat disebabkan rasa lapar dan haus, bebas dari rasa tidak nyaman, bebas dari rasa nyeri, luka, dan penyakit, bebas dari rasa takut dan stress, serta bebas mengekspresikan perilaku normal¹³.

Perhitungan nilai LD₅₀ menggunakan metode Karber. Hasil yang didapatkan yaitu kematian pada dosis 12.500mg/kg BB mencit, sehingga faktor kematian adalah 12.250 dengan dosis bertingkat sebesar 2.500mg/kg BB mencit. Nilai LD₅₀ yang diperoleh adalah 12,5gr/kg BB dan termasuk ke dalam kategori toksik ringan.

Pengamatan pada kelompok kontrol yang diberikan CMC-Na, yaitu tidak terdapat perubahan yang terjadi pada hati mencit. Perubahan yang terjadi pada hati disebabkan oleh senyawa tanin yang terkandung di dalam ekstrak daun pegagan. Tannin memiliki efek toksik apabila diberikan dalam konsentrasi yang tinggi. Efek yang ditimbulkan oleh senyawa tanin yaitu adanya pendarahan pada saluran pencernaan, nekrosis hati, dan kerusakan ginjal¹⁴.

Uji alergi juga dilakukan dengan mengaplikasikan ekstrak daun pegagan secara topikal pada punggung mencit lalu diamati selama 24 jam dan tidak terdapat adanya eritema atau edema pada lapisan dermal mencit.

SIMPULAN

Ekstrak daun pegagan pada dosis 5000mg/kg BB, 7500mg/kg BB, 10.000mg/kg BB dan 12.500mg/kg BB tidak menimbulkan efek toksik terhadap kematian mencit, sedangkan nilai LD₅₀ diperoleh 12,5gr/kg BB yang termasuk ke dalam kategori toksik ringan. Ekstrak daun pegagan tidak menimbulkan kerusakan hati pada kelompok kontrol, namun kerusakan hati berupa degenerasi parenkimatososa terjadi pada kelompok dosis 5000mg/kg BB dan 7500mg/kg BB mencit. Degenerasi hidropik terjadi pada kelompok dosis 10.000mg/kg BB dan 12.500mg/kg BB mencit. Ekstrak daun pegagan 25% juga tidak menimbulkan alergi pada mencit



DAFTAR PUSTAKA

1. Wintoko, R. & Yadika, A.D.N., 2020, 'Manajemen Terkini Perawatan Luka', *Jurnal Kedokteran Universitas Lampung*, 4(2), 183-189.
2. Marwati & Amidi, 2018, 'Pengaruh Budaya, Persepsi, dan Kepercayaan terhadap Keputusan Pembelian Obat Herbal', *Jurnal Ilmu Manajemen*, 7(2), 168-180.
3. Susetyarini, Rr. E., Latifa, R., Wahyono, P., & Nurrohman, E., 2020, 'Atlas Morfologi dan Anatomi Pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urban.)', Universitas Muhammadiyah Malang.
4. Antari, P.D., 2016, 'Pengaruh Gel Ekstrak Pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urban) terhadap Jumlah Sel Fibroblas dalam Proses Penyembuhan Luka pada Mencit (*Mus musculus*) secara *In Vivo*', Skripsi, Universitas Mahasaraswati Denpasar.
5. Azmi, E.N., 2014, 'Pengaruh Aplikasi Ekstrak Daun Pegagan (*Centella asiatica*) 10% terhadap Angiogenesis Luka Pasca Ekstraksi Gigi', Skripsi, Universitas Airlangga Surabaya.
6. Prestiyanti, N.M.I., Adiatmika, I.P.G., & Muliarta, I.M., 2021, 'Pemberian Pasta Ekstrak Daun Pegagan 10% Lebih Meningkatkan Jumlah Fibroblas dan Reepitelisasi pada Soket Mandibula daripada Pasta Ekstrak Daun Mengkudu 10% Pasca Pencabutan Gigi Marmut Jantan', *Intisari Sains Medis*, 12(3), 718-723.
7. Amaliyah, F.R., 2015, 'Uji Toksisitas Subkronik Air Daun Katuk (*Sauropus androgynus* (L.) Merr.) terhadap Berat Jantung dan Histologi Jantung Tikus Putih (*Rattus Norvegicus*) Betina, Skripsi, Fakultas Sains dan Teknologi
8. Fatirah, N., Gama, S.I., & Rusli, R., 2019, 'Pengujian Toksisitas Produk Herbal secara *In Vivo*', *Mulawarman Pharmaceutical Conference*, 14-21.
9. Sasmito, W.A., Wijayanti, A.D., Fitriana, I., & Sari, P.W., 2015, 'Pengujian Toksisitas Akut Obat Herbal pada Mencit Berdasarkan *Organization for Economic Co-operation and Development* (OECD)' *Jurnal Sain Veteriner*, 33(2), 234-239.



10. Fadli, Muhammad Yogie, 2015, 'Uji Toksisitas Ekstrak Etanol Daun Sambung Nyawa (*Gynura procumbens (Lour.) Merr*) terhadap Gambaran Histopatologis Lambung Pada Tikus Galur Sprague Dawley', Skripsi, Fakultas Kedokteran Universitas Lampung.
11. Hidayaturahmah, R., Mulyani, N., Saputri, N.M., & Sari, O., 2021, 'Penyuluhan dan Edukasi Terkait Jenis dan Penatalaksanaan Alergi pada Masyarakat di Dusun Temiyang, Desa Pardasuka, Kecamatan Katibung, Lampung Selatan', *Jurnal Pengabdian Farmasi Malahayati*, 4(2), 76-86.
12. Sutardi, 2016, 'Kandungan Bahan Aktif Tanaman Pegagan dan Khasiatnya untuk Meningkatkan Sistem Imun Tubuh', *Jurnal Litbang Pertanian*, 35(3), 121-130.
13. Mutiarahmi, C.N., Hartady, T., & Lesmana, R., 2021, 'Penggunaan Mencit sebagai Hewan Coba di Laboratorium yang Mengacu pada Prinsip Kesejahteraan Hewan', *Jurnal Medicus Veterinus*, 10(1), 134-145
14. Jayanegara, A.H.P.S., Makkar, Becker, K., 2009, 'Emisi Metana dan Fermentasi Rumen In Vitro Ransum Hay yang Mengandung Tanin Murni pada Konsentrasi rendah', *Media Peternakan*, 32(3), 184-194.