

Uji Toksisitas Subkronis Ekstrak Etanol Daun Pucuk Merah (*Syzygium Myrtifolium* Walp.) Terhadap Fungsi Hati Dan Ginjal

(Sub-Chronic Toxicity of *Syzygium Myrtifolium* Walp on Liver and Kidney Function)

SYILFIA HASTI¹, MUSDALIFAH¹, ASNILA¹, LISA RENITA¹, FERELINA SANTI¹,
SHELLA ANGGRAINI¹, NOVIA SINATA¹, RAHMAYATI RUSNEDY^{1*}

¹Program Studi Farmasi, Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi Riau, Pekanbaru, 28293,
Indonesia.

Diterima 7 Juli 2021, Disetujui 17 Maret 2022

Abstrak: Untuk pengembangan obat bahan alam dari ekstrak etanol daun pucuk merah (*Syzygium myrtifolium* Walp) harus dilakukan serangkaian uji keamanan secara praklinik agar diketahui keamanannya jika digunakan jangka panjang. Uji toksisitas subkronis ekstrak etanol daun pucuk merah dilakukan dengan menilai fungsi ginjal dan hati hewan uji setelah diberikan sediaan uji yang diberikan selama 60 hari, berupa pemeriksaan biokimia darah menggunakan alat Mindray®BA-88A dan pemeriksaan histologi organ ginjal dan hati. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian ekstrak etanol daun pucuk merah dosis 300, 600 dan 900 mg/kgBB tidak mempengaruhi aktivitas SGOT, SGPT, kadar kreatinin serum secara signifikan ($p>0,05$). Secara mikroskopis terhadap persentase kerusakan glomerulus ginjal kanan dan ginjal kiri pada dosis 600 dan 900 mg/kgBB terdapat perbedaan yang signifikan terhadap kelompok kontrol ($p<0,05$). Untuk pemeriksaan mikroskopis secara kualitatif yakni pengamatan sinusoid dan sel hepatosit pada tiap pemberian tingkatan dosis mengalami perubahan abnormal. Sedangkan pemeriksaan mikroskopis secara kuantitatif pada dosis 600 dan 900 mg/kgBB menyebabkan kenaikan persentase kerusakan vena sentralis ($p<0,05$). Dari penelitian dapat disimpulkan pemberian ekstrak etanol daun pucuk merah pada mencit putih aman terhadap fungsi hati dan ginjal pada dosis 300 mg/kgBB tetapi kelompok dosis 600 dan 900 mg/kgBB memberikan efek toksik terhadap organ ginjal dan hati bila dibandingkan dengan kelompok kontrol.

Kata kunci: toksisitas sub-kronis, *Syzygium myrtifolium* Walp., SGOT, SGPT, kreatinin.

Abstract: For the development of natural medicines from the ethanolic extract of *Syzygium myrtifolium* Walp leaves it is necessary to know the pre-clinical safety test so that its safety if used in the long term. The subchronic toxicity test of the ethanolic extract of *Syzygium myrtifolium* Walp leaves was carried out by assessing the kidney and liver function of the test animals given after 60 days of test preparation, in the form of blood biochemical examination using the Mindray®BA-88A device and histological examination of the kidneys and liver. The results showed that the administration of ethanol extract of *Syzygium myrtifolium* Walp leaves at doses of 300, 600 and 900 mg/kgBW did not significantly affect the activity of SGOT, SGPT, serum creatinine levels ($p>0.05$). Microscopically on the percentage of damage to the glomerulus of the right and left kidneys. at doses of 600 and 900 mg/kgBW there was a significant difference to the control group ($p<0.05$). For qualitative microscopic examination, namely observation of sinusoids and hepatocyte cells at each level, there were abnormal changes. Meanwhile, quantitative microscopic examination at doses of 600 and 900 mg/kgBW caused an increase in the percentage of central vein damage ($p<0.05$). From the research, it was found that the ethanolic extract of *Syzygium myrtifolium* Walp leaves of white mice was safe for liver and kidney function at a dose of 300 mg/kgBW, but the doses group of 600 and 900 mg/kgBW gave a toxic effect on the kidneys and liver when compared to the control group.

Keywords: sub-chronic toxicity, *Syzygium myrtifolium* Walp., SGOT, SGPT, creatinine.

*Penulis korespondensi

Email: rahmayatirusneddy@gmail.com

PENDAHULUAN

MASYARAKAT Indonesia telah lama mengenal serta menggunakan obat-obatan alami atau yang dikenal dengan obat tradisional. Obat tradisional sangat mudah diterima oleh masyarakat serta obat ini lebih murah dan mudah didapat. Terdapat berbagai macam obat tradisional yang berasal dari tanaman dan telah banyak diteliti kandungan kimia dan khasiat yang berada di dalamnya. Namun masih banyak tanaman yang belum diketahui tingkat toksisitasnya, sehingga perlu diteliti lebih lanjut agar obat tradisional tertentu aman dikonsumsi baik dalam jangka pendek maupun jangka panjang⁽¹⁾. Dalam hal pengembangan obat tradisional perlu diketahui efek penggunaannya terhadap keamanan tubuh. Pendekatan penilaian keamanan obat dapat dilakukan dengan uji toksisitas. Pengujian terhadap keamanan toksisitas yang harus dilakukan meliputi uji toksisitas akut, toksisitas subkronik, dan toksisitas kronik⁽²⁾.

Tanaman daun pucuk merah (*Syzygium myrtifolium* Walp) merupakan famili *myrtaceae*. Daun pucuk merah merupakan tanaman hias yang berpotensi dijadikan bahan obat alam. Telah dilaporkan ekstrak metanol daun pucuk merah mengandung senyawa fenolat, antioksidan flavonoid, dan *betunilic acid* dan digunakan sebagai penghambat angiogenesis dan tumor pada tikus⁽³⁾. Selain itu, tingginya total fenolik dan flavonoid dari ekstrak etanol dan etil asetat daun pucuk merah (*Syzygium myrtifolium* Walp) menunjukkan memiliki aktivitas antoksidan⁽⁴⁾.

Sebelum suatu obat digunakan haruslah menjalani serangkaian uji untuk memastikan keamanan, efektivitas dan mutunya, uji diawali dengan skrining untuk mencari senyawa aktif dan dilanjutkan dengan aktivitas, lalu dilanjutkan dengan uji efektivitas atau selektivitas dan mekanisme kerjanya pada hewan coba atau mikroba, salah satunya adalah aktivitas farmakologi⁽²⁾.

Beberapa penelitian aktivitas farmakologi ekstrak tanaman pucuk merah yang telah dilakukan, diantaranya memiliki aktivitas antioksidan, antibakteri, antijamur dan antivirus⁽⁵⁾. Ekstrak *n*-heksan dan etil asetat pucuk merah memberikan efek sebagai antiinflamasi⁽⁶⁾ dan mempunyai efek antidiabetes dari ekstrak etil asetat daun pucuk merah pada dosis 100 mg/kgBB, 200 mg/kgBB, 400 mg/kgBB⁽⁷⁾ serta ekstrak *n*-heksan pada dosis 100 mg/kgBB, 200 mg/kgBB, 400 mg/kgBB yang telah dilaporkan juga mempunyai efek antidiabetes⁽⁸⁾.

Penelitian aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun pucuk merah (*Syzygium myrtifolium* Walp) dilaporkan memiliki efek antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*⁽⁹⁾. Hasil

isolasi dari daun pucuk merah juga didapatkan kristal *dimethoxychalcone* (DMC) dan ekstrak etanol daun pucuk merah memiliki aktivitas antikanker pada sel kanker kolon manusia (HT-29)⁽¹⁰⁾. Sedangkan buah pucuk merah diisolasi mengandung antosianin dan memiliki aktivitas antioksidan dan aplikasi sebagai pewarna alami⁽¹¹⁾.

Penelitian toksisitas akut telah dilakukan sebelumnya bahwa ekstrak etanol dari daun pucuk merah (*Syzygium myrtifolium* Walp) memiliki nilai LD₅₀ > 16000 mg/kg BB di golongan praktis tidak toksik dan aman⁽¹²⁾. Kemudian dapat dilanjutkan dengan uji toksisitas subkronik untuk melihat pengaruh paparan zat yang berulang-ulang dengan dosis yang tidak mematikan atau dosis yang kemungkinan akan diberikan pada manusia⁽²⁾.

Pengujian toksisitas subkronik meliputi pemeriksaan hematologi, pemeriksaan biokimia klinis, dan histopatologi. Menurut WHO (2000) pemeriksaan biokimia klinis meliputi: fungsi hati yakni *Glutamat Oksaloasetat Transaminase* (GOT), *Glutamat Piruvat Transaminase* (GPT), Gamma GT dan fungsi ginjal meliputi Nitrogen Urea, Kreatinin, Total-Bilirubin). Pada pemeriksaan biokimia klinis telah dilakukan penelitian pengaruh ekstrak etanol daun pucuk merah (*Syzygium myrtifolium* Walp) terhadap kadar bilirubin total serum dimana hasilnya menunjukkan bahwa pada dosis 300, 600 dan 900 mg/kgBB tidak mempengaruhi kadar bilirubin total serum setelah diberikan selama 60 hari⁽¹³⁾ dan pada penelitian yang telah dilakukan oleh Permadi (2016) dengan pemberian dosis 300, 600 dan 900 mg/kgBB selama 60 hari, untuk dosis 600 dan 900 mg/kgBB tidak mempengaruhi kadar trigliserida pada serum hewan uji⁽¹⁴⁾.

Penelitian ini bertujuan untuk melihat pengaruh pemberian ekstrak etanol daun pucuk merah (*Syzygium myrtifolium* Walp) selama 60 hari pada dosis 300 mg/kgBB, 600 mg/kgBB dan 900 mg/kgBB. Parameter yang diamati pada uji toksisitas subkronis ini adalah pemeriksaan biokimia darah, histologi organ hati dan ginjal. Untuk menilai fungsi hati dilakukan pemeriksaan kadar *Glutamat Oksaloasetat Transaminase* (GOT), *Glutamat Piruvat Transaminase* (GPT) dan untuk menilai fungsi ginjal dilakukan pemeriksaan kadar kreatinin urin dan kreatinin serum.

BAHAN DAN METODE

BAHAN. Daun pucuk merah (*Syzygium myrtifolium* Walp.) (diperoleh di lingkungan Universitas Riau Pekanbaru), formalin 10%, etanol 96%, NaCMC, akuadest, alkohol 70%, alkohol 80 %, etanol 96%, alkohol absolut, xilol, parafin, meyer albumin (putih telur+gliserin), canada balsem, air suling, eosin,

hematoksin, reagen kreatinin (Mindray®), reagen SGOT, SGPT dan larutan Preci Control Clinchem Multi 1 (Mindray®).

Alat. Alat yang digunakan antara lain: *rotary evaporator*, tabung reaksi, fotometer (Mindray® BA-88A), mikroskop.

METODE. Identifikasi dan Pembuatan Ekstrak Daun Pucuk Merah (*Syzygium myrtifolium* Walp.). Identifikasi tanaman daun pucuk merah (*Syzygium myrtifolium* Walp.) dilakukan di Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam (FMIPA) Universitas Andalas Kampus Limau Manih Padang, Sumatra Barat.

Pembuatan ekstrak daun pucuk merah (*Syzygium myrtifolium* Walp.) dimulai dengan membuat simplisia kering terlebih dahulu dan selanjutnya diserbukan. Kemudian dimaserasi sebanyak 3 kali dengan pelarut etanol 96% dengan pengadukan kontinyu selama 5 hari. Maserat yang diperoleh dikentalkan dengan alat *rotary evaporator* sehingga diperoleh ekstrak kental etanol daun pucuk merah (*Syzygium myrtifolium* Walp.)⁽¹⁴⁾.

Pengamatan Organoleptik Ekstrak Etanol Daun Pucuk Merah (*Syzygium myrtifolium* Walp.). Parameter organoleptik ekstrak meliputi penggunaan panca indera mendeskripsikan bentuk, warna, bau, rasa guna pengenalan awal yang sederhana se-objektif mungkin terkait karakteristik ekstrak etanol daun pucuk merah (*Syzygium myrtifolium* Walp.)⁽¹⁵⁾.

Uji Toksisitas Subkronik Ekstrak Etanol Daun Pucuk Merah (*Syzygium myrtifolium* Walp.)⁽¹⁶⁾. Penelitian ini sudah lolos kaji etik dari Unit Etik Penelitian Kedokteran dan Kesehatan Fakultas Kedokteran, Universitas Riau, (*Ethical Clearance* No. B./148/UN19.5.1.1.8/UEPKK/2020). Hewan uji yang digunakan adalah mencit putih jantan (*Mus musculus* L.) usia 6-8 minggu dengan berat 20-30 g. Hewan uji dibagi dalam 1 kelompok kontrol dan 3 kelompok perlakuan. Kelompok kontrol yakni hewan percobaan diberikan suspensi NaCMC sebanyak 1% dari bobot badan mencit.

Dosis sediaan uji yang diberikan kepada hewan uji ditentukan berdasarkan penelitian sebelumnya⁽¹⁷⁾. Dosis sediaan uji yang diberikan kepada hewan uji adalah 300, 600 dan 900 mg/kgBB. Sediaan uji diberikan secara oral dengan frekuensi pemberian 1 kali sehari selama 60 hari. Pemeriksaan hasil uji toksisitas subkronik dilakukan pada hari ke-61. Pada hari ke-61 semua darah mencit diambil dengan secara intrakardiak, darah ditampung dengan tabung reaksi dan dibiarkan selama 30 menit. Darah disentrifus selama 10 menit dengan kecepatan 3000 rpm, serum dipisahkan kemudian dilakukan pemeriksaan biokimia darah dan terhadap organ ginjal dan hati dilakukan

pengamatan histologi.

Pemeriksaan Biokimia Darah untuk Menilai Fungsi Organ Ginjal dan Hati. Pemeriksaan Klirens Kreatinin. Untuk menentukan klirens kreatinin terlebih dahulu dilakukan tahapan pengukuran volume urin yang dilakukan pada hari ke-60 dengan cara meletakkan mencit dalam kandang metabolit. Urin yang diekskresikan selama 24 jam ditampung dan diukur volumenya.

Pengukuran kreatinin urin dilakukan pada hari ke-61 dengan cara urin diencerkan lebih dahulu dengan akuades (1:49) v/v dalam labu ukur, dipipet sebanyak 18 µL masukkan ke dalam tabung reaksi kemudian dicampur dengan reagen kreatinin (Mindray®) yaitu 180 µL reagen 1, lalu homogenkan, kemudian diamkan selama 1 menit pada suhu 37 °C. Tambahkan 180 µL reagen 2 lalu homogenkan, kemudian diamkan selama 30 detik pada suhu 37 °C. Ukur absorbansi menggunakan alat fotometer (Mindray® BA-88A) pada panjang gelombang 510 nm, sehingga didapatkan kadar kreatinin urin. Sedangkan untuk menentukan kadar kreatinin serum dilakukan dengan cara yakni sebanyak 18 µL serum dipipet masukkan ke dalam tabung reaksi dan dilanjutkan dengan prosedur yang sama dengan tahapan pemeriksaan kreatinin urin sehingga didapatkan kadar kreatinin serum. Perhitungan klirens kreatinin dengan menggunakan rumus (Kaplan and Szabo, 1979)⁽¹⁷⁾.

Pengukuran Aktivitas SGOT dan SGPT. Metoda penentuan SGOT dan SGPT yang digunakan berdasarkan metoda dari *International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine* (IFCC). Pengukuran menggunakan alat fotometer (Mindray® BA-88A) pada panjang gelombang 340 nm suhu 37°C, sehingga didapat aktivitas (U/L) kadar SGOT dan SGPT.

Pemeriksaan SGOT dan SGPT memiliki prosedur pengerjaan yang sama yakni dengan terlebih dahulu membuat larutan reagen 1 sebanyak 1000 µL dimasukkan ke dalam tabung, tambah serum sampel sebanyak 100 µL dan diamkan selama 5 menit kemudian tambah reagen 2 sebanyak 250 µL. Setelah itu campuran serum sampel dan reagen dimasukkan pada alat penghisap fotometer (Mindray® BA-88A) dan dibaca hasil yang tertera pada layar (U/L).

Pemeriksaan Histologi Organ Ginjal dan Hati. Pemeriksaan ini dilakukan dengan cara pembuatan preparat dengan metoda parafin. Organ hati dan ginjal dari mencit dipotong potong dan dimasukkan ke dalam larutan NaCl fisiologis selama 30 menit. Objek dipindahkan ke dalam larutan fiksatif Bouin selama maksimal 22 jam. Jaringan organ didehidrasi dengan larutan alkohol konsentrasi 50, 70, 80, 90, 96%, dan alkohol absolut masing-masing selama 1

jam. Penjernihan dilakukan dengan memindahkan objek ke dalam larutan alkohol absolut:xylool (1:1) dan xylool, masing-masing selama 1 jam. Kemudian objek dimasukkan ke dalam larutan infiltrasi yang dilakukan dalam inkubator pada suhu 56-60 °C, selanjutnya dilakukan penanaman (*embedding*), objek dimasukkan ke dalam cetakan logam atau kotak kertas yang sudah berisi parafin cair yang dipanaskan dalam inkubator, selanjutnya dibiarkan dingin dan membeku, penyayatan (*section*), penempelan (*afiniting*), pewarnaan dengan zat warna Hematoksin Erlich dan Eosin alkohol, penutupan (*mounting*). Terakhir preparat diberi label sebelah kanan objek, kemudian diperiksa secara mikroskopis dan dibuat foto mikroskopisnya.

Preparat yang telah selesai diberi label diperiksa secara mikroskopis dengan perbesaran 400X. Untuk data kuantitatif jumlah vena sentralis hati dihitung dan jumlah glomerulus ginjal yang rusak pada satu lapang pandang saja sebanyak 5 sayatan. Untuk data kualitatif yang diamati pada preparat hati adalah bentuk vena sentralis (lingkaran utuh/putus), sinusoid (utuh/membesar), hepatosit (teratur membentuk lempeng/tidak teratur), dan nucleus (bulat/mengecil/pecah/hilang). Sedangkan pada ginjal untuk data kualitatif yang diamati adalah ruang Bowman/ruang urinarius (sempit/tidak sempit), tubulus proksimal (utuh/lisis), tubulus distal (utuh/lisis). Pengamatan kualitatif pada ginjal dilakukan dengan melihat foto jaringan.

Analisis Data. Data uji toksisitas subkronis dinyatakan sebagai rata-rata \pm SD meliputi kadar kreatinin serum, kreatinin urin, klirens kreatinin, aktivitas SGOT, SGPT, rasio berat relatif organ ginjal dan hati dan gambaran histologi ginjal dan hati yang dianalisa secara deskriptif dan ditampilkan dalam bentuk foto mikroskopis, persentase kerusakan glomerulus dan vena sentralis hati yang diperoleh dari hasil pengamatan dan diolah menggunakan analisis statistik ANOVA (*Analysis of Variance*) satu arah dan dilanjutkan dengan uji Tukey dengan menggunakan program SPSS.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Organoleptik Ekstrak Etanol Daun Pucuk Merah. Hasil pemeriksaan standarisasi terhadap parameter organoleptis, didapatkan bentuk ekstrak kental, memiliki warna coklat hijau kehitaman, rasa yang pahit serta bau yang khas, hasil susut pengeringan yaitu 0,534% dan hasil dari bobot jenis yaitu 0,0673. Susut pengeringan bertujuan memberikan batasan maksimal tentang besarnya senyawa yang hilang pada proses pengeringan sedangkan bobot jenis bertujuan memberikan batasan tentang besarnya

massa per satuan volume yang merupakan parameter khusus ekstrak cair sampai ekstrak pekat (kental) yang masih dapat dituang. Memberikan gambaran kandungan kimia terlarut. Kedua parameter tersebut termasuk parameter standar umum Non spesifik untuk persyaratan mutu bahan baku ekstrak⁽¹⁵⁾.

Pemeriksaan Biokimia Darah untuk Menilai Fungsi Organ Ginjal dan Hati. Pemeriksaan biokimia klinis sebagai bagian dari uji toksisitas subkronis meliputi: fungsi hati (SGOT, SGPT, Gamma GT) dan fungsi ginjal (Nitrogen Urea, Kreatinin, Total-Bilirubin)⁽¹⁷⁾. Parameter yang diukur pada penelitian ini adalah: SGOT, SGPT dan Kreatinin.

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan diperoleh nilai kreatinin urin rata-rata mencit putih kelompok kontrol adalah 5,82 mg/dL. Kreatinin urin rata-rata mencit putih setelah pemberian ekstrak etanol daun pucuk merah selama 60 hari pada dosis 300, 600 dan 900 mg/kgBB berturut-turut adalah 14,91; 12,92 dan 14,00 mg/dL dan dari hasil uji statistik ANOVA satu arah terhadap kreatinin urin terdapat perbedaan yang signifikan ($p < 0,05$) dengan kelompok kontrol (Tabel 1.), data ini memperlihatkan terjadinya kenaikan kadar kreatinin yang dikeluarkan melalui urin dibandingkan pada kelompok kontrol.

Tabel 1. Pengaruh pemberian ekstrak etanol daun Pucuk Merah (*Syzygium myrtifolium* Walp) terhadap kreatinin urin.

Kelompok	Kreatinin urin (mg/dL)
Kontrol	5,82 \pm 0,046
Dosis 300 mg/kgBB	14,91 \pm 0,120
Dosis 600 mg/kgBB	12,92 \pm 0,017
Dosis 900 mg/kgBB	14,00 \pm 0,350

Pemeriksaan biokimia darah berikutnya adalah pemeriksaan nilai kreatinin serum rata-rata mencit putih jantan dari kelompok kontrol adalah 0,589 mg/dL. Sedangkan kreatinin serum rata-rata mencit putih jantan setelah pemberian ekstrak etanol daun pucuk merah selama 60 hari pada dosis 300, 600 dan 900 mg/kgBB adalah 0,798; 0,775; 0,778 mg/dL (Tabel 2.) dan dari hasil uji statistik ANOVA satu arah terhadap kreatinin serum tidak terdapat perbedaan yang signifikan ($p > 0,05$) dengan kelompok kontrol/normal. Nilai kreatinin serum yang didapat pada penelitian ini juga masih dalam rentang normal kreatinin serum untuk mencit yaitu 0,2-0,9 mg/dL⁽¹⁷⁾. Dari data diatas terlihat kreatinin serum kelompok kontrol dan kelompok perlakuan masih dalam range normal menunjukkan tidak ada gangguan pada fungsi ginjal mencit.

Klirens kreatinin rata-rata mencit putih jantan kelompok kontrol adalah 0,0018 mL/menit. Klirens kreatinin rata-rata mencit putih jantan setelah

pemberian ekstrak etanol daun pucuk merah selama 60 hari pada dosis 300, 600 dan 900 mg/kgBB berturut-turut adalah 0,0078; 0,0085; 0,0262 mL/menit dan dari hasil uji statistik ANOVA satu arah terhadap klirens kreatinin tidak terdapat perbedaan yang signifikan ($p>0,05$) dibandingkan kelompok kontrol, artinya tidak terjadi perubahan fungsi glomerulus ginjal setelah diberikan ekstrak etanol daun pucuk merah pada dosis 300, 600 dan 900 mg/kgBB. Kreatinin dieliminasi hanya melalui filtrasi glomerulus yang sangat sedikit diekskresikan melalui tubulus sehingga klirens kreatinin dapat digunakan untuk menghitung laju filtrasi glomerulus untuk mengetahui kapasitas filter ginjal⁽¹⁸⁾. Hasil klirens kreatinin diperlihatkan pada Tabel 3.

Tabel 2. Pengaruh pemberian ekstrak etanol daun Pucuk Merah (*Syzygium myrtifolium* Walp.) terhadap kreatinin serum.

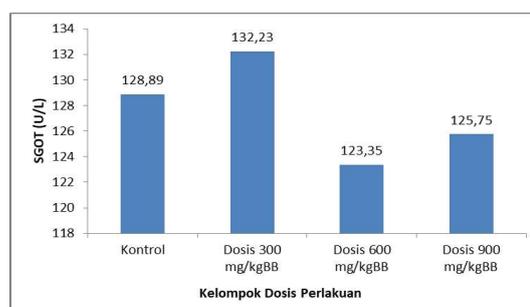
Kelompok	Kreatinin Serum (mg/dL)
Kontrol	0,58 ± 0,241
Dosis 300 mg/kgBB	0,79 ± 0,096
Dosis 600 mg/kgBB	0,77 ± 0,022
Dosis 900 mg/kgBB	0,77 ± 0,087

Tabel 3. Pengaruh pemberian ekstrak etanol daun Pucuk Merah (*Syzygium myrtifolium* Walp.) terhadap klirens kreatinin.

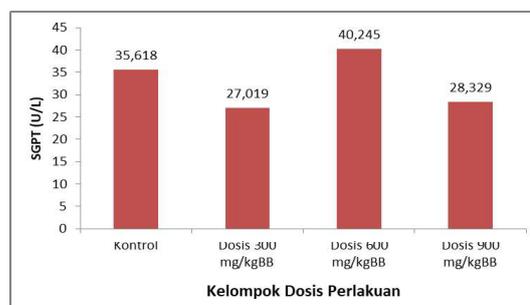
Kelompok	Klirens kreatinin (ml/menit)
Kontrol	0,0018 ± 0,0011
Dosis 300 mg/kgBB	0,0078 ± 0,0009
Dosis 600 mg/kgBB	0,0085 ± 0,0003
Dosis 900 mg/kgBB	0,0262 ± 0,0016

Hasil pemeriksaan biokimia darah yang diperoleh untuk menilai fungsi organ hati yaitu nilai aktivitas SGOT mencit kontrol, dosis 300, 600 dan 900 mg/kgBB secara berturut-turut adalah 128,89; 132,23; 123,35 dan 125,75 U/L. Berdasarkan hasil analisis statistik ANOVA satu arah terhadap aktivitas SGOT menunjukkan bahwa pemberian ekstrak etanol daun pucuk merah (*Syzygium myrtifolium* Walp.) pada dosis 300, 600 dan 900 mg/kgBB terlihat tidak berbeda signifikan ($p>0,05$) dibandingkan kelompok kontrol. Sedangkan untuk hasil nilai aktivitas SGPT mencit kontrol, dosis 300, 600 dan 900 mg/kgBB secara berturut-turut adalah 35,618; 27,019; 40,245 dan 28,329 U/L. Berdasarkan hasil analisis statistik ANOVA satu arah terhadap aktivitas SGPT menunjukkan bahwa pemberian ekstrak etanol daun pucuk merah (*Syzygium myrtifolium* Walp.) pada dosis 300, 600 dan 900 mg/kgBB tidak berbeda signifikan ($p>0,05$) terhadap kelompok kontrol/normal. Kadar SGOT normal dalam darah mencit adalah 54-298

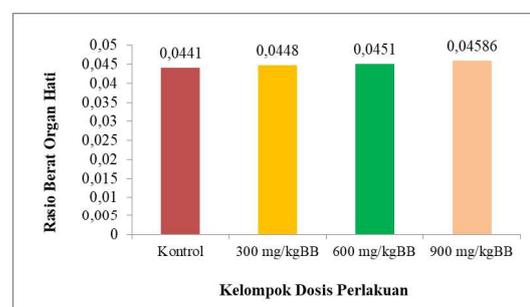
IU/L dan kadar SGOT yang didapatkan yaitu 109,719-126,166 IU/L, sedangkan untuk nilai SGPT normal adalah 17-77 IU/L(19) dan kadar SGPT yang didapatkan yaitu 33,3486-42,3928 IU/L. Hal ini menunjukkan bahwa pemberian ekstrak etanol daun pucuk merah (*Syzygium myrtifolium* Walp) pada dosis 300, 600 dan 900 mg/kgBB dengan mengukur aktivitas SGOT dan SGPT masih masuk ke dalam kadar normal. (Gambar 1.)



(a)



(b)



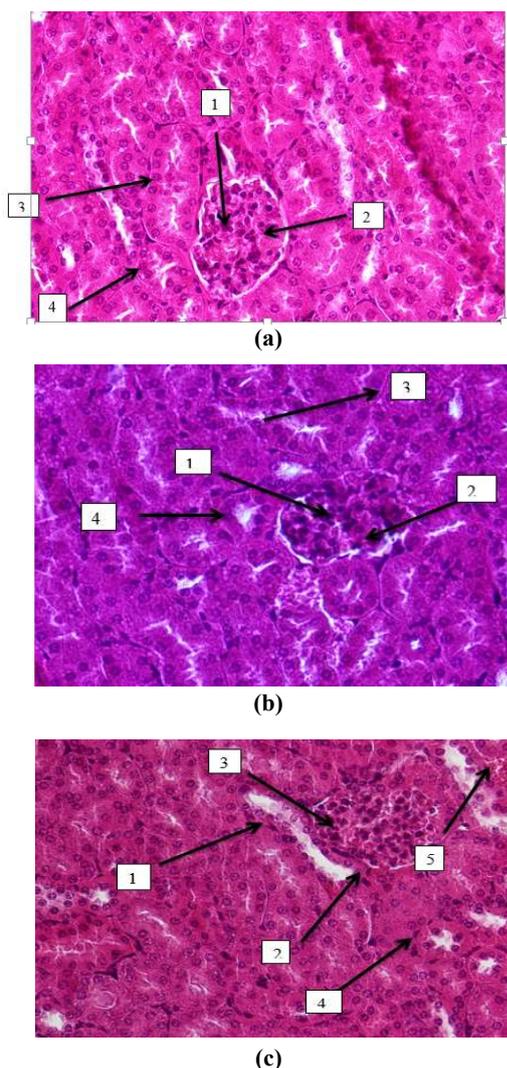
(c)

Gambar 1. Pengaruh pemberian ekstrak etanol daun Pucuk Merah (*Syzygium myrtifolium* Walp.) terhadap nilai (a) SGOT, (b) SGPT, dan (c) rasio berat organ hati.

Pemeriksaan Histologi Organ Ginjal Dan Hati. Pengamatan Mikroskopis Ginjal. Pada ginjal mencit putih (*Mus musculus* L.) jantan pada kelompok kontrol terlihat bahwa glomerulus dikelilingi kapsula bowman membentuk ruang bowman tidak mengalami perubahan. Pada kelompok dosis 300 mg/kgBB glomerulus mengalami pembesaran sehingga ruang bowman menyempit (Gambar 2a). Pada kelompok dosis 600 mg/kgBB beberapa glomerulus mengalami nekrosis dan glomerulus mengalami pembesaran sehingga ruang bowman mengalami penyempitan (Gambar 2b) dan pada kelompok dosis 900 mg/kgBB

beberapa glomerulus mengalami mengalami nekrosis dan glomerulus mengalami kerusakan terlihat ruang bowman menjadi sempit dan kongesti pada pembuluh darah (Gambar 2c).

Dari pengamatan secara mikroskopis ginjal mencit putih (*Mus musculus L.*) terlihat tidak ada perubahan yang terjadi pada tubulus proksimal dan tubulus distal pada jaringan ginjal mencit putih kelompok yang diberi dosis 300 mg/kgBB, 600 mg/kgBB, 900 mg/kgBB dibandingkan dengan mencit kelompok kontrol yang tak mengalami perubahan (Gambar 2a, 2b dan 2c).

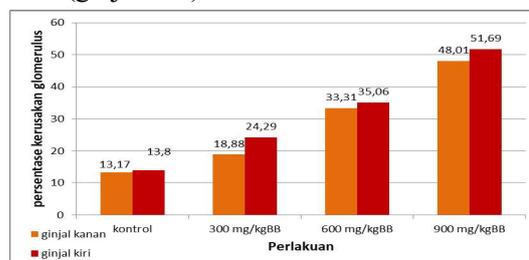


Gambar 2. Foto mikroskopis organ ginjal pada kelompok (a) 300, (b) 600, dan (c) 900 mg/kgBB (pewarnaan H-E, perbesaran 400x).

Keterangan: (1) Glomerulus terlihat mengalami pembesaran, (2). Ruang bowman mengalami penyempitan, (3).Tubulus proksimal normal, (4).Tubulus distal normal dan (5). Kongesti dipembuluh darah.

Persentase kerusakan glomerulus pada ginjal mencit putih jantan (*Mus musculus L.*) yang diberikan ekstrak etanol Daun Pucuk Merah (*Syzygium myrtifolium* Walp.) disajikan pada Gambar 3. Pada kelompok kontrol rata-rata kerusakan glomerulus

13,17% (ginjal kanan) dan 13,80% (ginjal kiri); kelompok dosis 300 mg/kgBB rata-rata kerusakan glomerulus 18,88% (ginjal kanan) dan 24,29% (ginjal kiri); kelompok dosis 600 mg/kgBB dengan persentase kerusakan 33,31% (ginjal kanan) dan 35,06% (ginjal kiri) dan kelompok dosis 900 mg/kgBB persentase kerusakan glomerulus 48,01% (ginjal kanan) dan 51,46% (ginjal kiri).



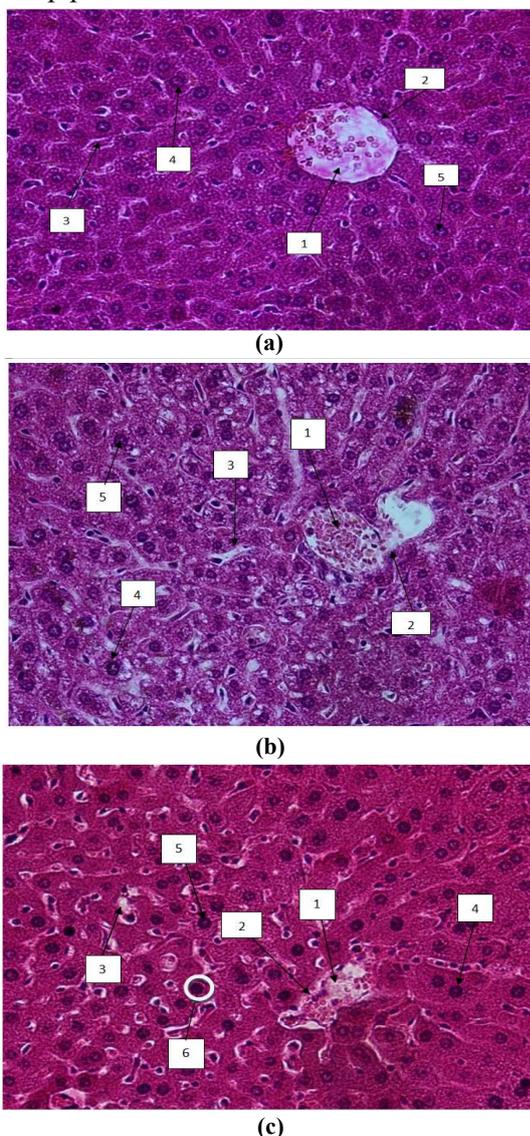
Gambar 3. Persentase kerusakan glomerulus pada ginjal mencit putih jantan (*Mus musculus L.*).

Dari data analisis statistik ANOVA satu arah dan dilanjutkan uji tukey terhadap persentase kerusakan glomerulus ginjal kiri dan ginjal kanan kelompok dosis 300 mg/kgBB tidak berbeda signifikan dibandingkan dengan kelompok kontrol ($p > 0,05$), pada dosis 600 mg/kgBB dan 900 mg/kgBB terdapat perbedaan yang signifikan pada persentase kerusakan glomerulus ginjal kiri dan kanan dibandingkan dengan kelompok kontrol ($p < 0,05$). Hal ini berarti ekstrak etanol daun pucuk merah dapat meningkatkan persentase kerusakan glomerulus pada kelompok dosis 600 mg/kgBB dan 900 mg/kgBB. Sehingga dapat dikatakan bahwa semakin meningkatnya dosis maka persentase kerusakan juga meningkat.

Kerusakan glomerulus diduga karena adanya kandungan senyawa metabolit sekunder seperti flavonoid, fenolik, serta steroid yang kadarnya sudah melebihi dosis sehingga mengakibatkan kerusakan pada glomerulus. Dosis merupakan salah satu yang dapat menyebabkan efek toksik jika diberikan secara berlebihan sehingga sel-sel pada ginjal akan mengalami nefrotoksik, karena adanya senyawa tersebut dibawa bersama aliran darah menuju ginjal⁽⁵⁾.

Pengamatan Mikroskopis Hati. Pada pemeriksaan histologi hati yang telah dilakukan didapatkan hasil bahwa pemberian ekstrak etanol daun pucuk merah (*Syzygium myrtifolium* Walp.) pada dosis 300 mg/kgBB tidak memperlihatkan efek toksik, ditandai dengan warna organ hati hanya sedikit pucat dan tidak berbeda bermakna jika dibandingkan kelompok kontrol, sedangkan pengamatan histologi makroskopik terhadap organ hati pada dosis 600 dan 900 mg/kgBB berwarna lebih pucat dengan tekstur organ hati semua licin dan terlihat bintik-bintik kecil pada hati.

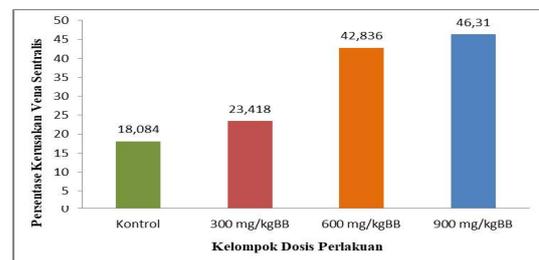
Pengamatan mikroskopis histologi preparat hati pada kelompok dosis 300 mg/kgBB dapat dilihat vena sentralis terlihat utuh dan relatif normal dengan sel endotelium yang masih tersusun rapi. Sinusoid mulai melebar serta ada kongesti sinusoid dan sebagian kecil sel-sel hepatosit mulai mengalami nekrosis. Hasil dari kelompok Dosis 600 mg/kgBB memperlihatkan vena sentralis dan sel endotelium mulai rusak, terjadi pelebaran sinusoid dan ada kongesti sinusoid, hepatosit mengalami degenarasi melemak. Sedangkan pada kelompok Dosis 900 mg/kgBB menunjukkan adanya vena sentralis dan sel endotelium yang rusak, terjadi pelebaran sinusoid dan ada kongesti sinusoid, hepatosit terlihat nekrosis dan inti sel mengalami piknosis (Gambar 4a, 4b dan Gambar 4c). Adapun perhitungan secara kuantitatif hanya dilakukan terhadap persentase kerusakan vena sentralis.



Gambar 4. Histologi hati mencit putih (*Mus musculus L.*) jantan kelompok dosis (a) 300, (b) 600, (c) 900 mg/kgBB (pewarnaan H-E, perbesaran 400x).

Keterangan: (1). Vena sentralis, (2). Endotelium, (3). Sinusoid, (4). Hepatosit, (5). Inti sel dan (6). Inti sel mengalami piknosis.

Persentase kerusakan vena sentralis organ hati mencit putih (*Mus musculus L.*) jantan setiap perlakuan dapat dilihat pada Gambar 5. Hasil perhitungan persentase kerusakan vena sentralis organ hati mencit kelompok kontrol dan dosis 300, 600, dan 900 mg/kgbb berturut-turut adalah 18,084; 23,418; 42,836; 46,310%. Berdasarkan Statistik ANOVA satu arah diperoleh, persentase kerusakan vena sentralis tidak berbeda secara signifikan ($p < 0,05$) antara kelompok kontrol dengan dosis 300 mg/KgBB tetapi berbeda signifikan antara kelompok kontrol dengan dosis 600 dan 900 mg/kgBb. Hal ini menunjukkan pada dosis 600 dan 900 mg/kgbb terjadi peningkatan jumlah vena sentralis yang mengalami kerusakan.



Gambar 5. Persentase kerusakan vena sentralis organ hati mencit putih (*Mus musculus L.*) jantan setiap perlakuan.

Pembuluh darah berkaitan dengan perannya dalam proses sirkulasi, dimana vena sentralis menerima darah dari sinusoid-sinusoid. Sebanyak 25% dari darah yang mengalir ke sinusoid berasal dari arteri hepatica, sedangkan 75% berasal dari vena porta yang mengalirkan darah dari saluran cerna. Jadi vena sentralis akan banyak menampung nutrien-nutrien dan zat-zat lain hasil metabolisme yang dapat bersifat toksik maupun nontoksik. Banyaknya darah yang ditampung oleh vena sentralis akan menyebabkan konsentrasi zat yang bersifat toksik jauh lebih besar, sehingga hal ini dapat menyebabkan kerusakan pada vena sentralis^(20,21).

SIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan pemberian ekstrak etanol daun pucuk merah (*Syzygium myrtifolium* Walp) pada uji toksisitas subkronik pada mencit putih (*Mus musculus L.*) aman terhadap fungsi hati dan ginjal pada dosis 300 mg/kgBB. Sedangkan pemberian ekstrak etanol daun pucuk merah (*Syzygium myrtifolium* Walp) kelompok dosis 600 dan 900 mg/kgBB memberikan efek toksik terhadap organ ginjal dan hati bila dibandingkan dengan kelompok kontrol.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terimakasih kepada Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi Riau yang telah membiayai penelitian ini melalui Hibah Penelitian Dosen Lanjutan tahun 2019 dan 2020.

DAFTAR PUSTAKA

1. Hyeronimus SB. Ragam dan khasiat tanaman obat, Edisi 1. Jakarta: AgroMedia; 2006.
2. Priyanto. Toksikologi, mekanisme, terapi antidotum, dan penilaian resiko dan terapi antidotum. Jakarta: Lembaga Studi dan Konsultasi Farmakologi (Leskonfi); 2009.
3. Aisha AFA, Ismail Z, Salah KMA, Siddiqui JM, Ghafar G, and Majid AMSA. *Syzygium campanulatum* Korth methanolic extract inhibits angiogenesis and tumor growth, in nude. BMC Complementary and Alternative Medicine. 2013.13:168- 78.
4. Angraini D. Uji aktivitas antioksidan, total flavonoid dan total fenolik dari ekstrak *n*-heksan, etil asetat dan etanol Pucuk Merah (*Syzygium myrtifolium* Walp.) [Skripsi]. Pekanbaru: Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi Riau; 2015.
5. Ahmad, M. A., Lim, Y.H., Chan, Y.S., Hsu, C.Y., Wu, T.Y., & Sit, N.W. Chemical composition, antioxidant, antimicrobial and antiviral activities of the leaf extracts of *Syzygium myrtifolium*. Acta Pharmaceutica, 2022. 72(2), 600-50.
6. Sriwahyuni A. Uji efek antiinflamasi ekstrak *n*-heksan dan etil asetat daun Pucuk Merah terhadap mencit putih (*Mus musculus* L.) Jantan [Skripsi]. Pekanbaru: Sekolah Tinggi Ilmu Farnasi Riau; 2014.
7. Sarjono. Uji aktivitas antidiabetes ekstrak etil asetat daun Pucuk Merah (*Syzygium myrtifolium* Walp.) terhadap mencit putih (*Mus musculus* L.) jantan [Skripsi]. Pekanbaru: Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi Riau; 2015.
8. Syilfia H, Emrizal; Susilawati, F. Uji aktivitas antidiabetes ekstrak *n*-heksana daun Pucuk Merah (*Syzygium Myrtifolium* Walp.) terhadap mencit Putih diabetes. Pharmacy: Jurnal Farmasi Indonesia (*Pharmaceutical Journal of Indonesia*), 2017. 13.02: 172-81.
9. Haryati NA, Saleh CE. Uji toksisitas dan aktivitas antibakteri ekstrak daun Merah tanaman Pucuk Merah (*Syzygium myrtifolium* Walp) terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Jurnal Kimia Mulawarman, 2016. 13.1.
10. Memon AH, Ismail Z, Aisha AFA, Al-Suede FSR, Hamil MSR, Hashim S, *et al*. Isolation, characterization, crystal structure elucidation, and anticancer study of diethyl cardamonin, Isolated from *Syzygium campanulatum* Korth. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine. 2014. p:1-11.
11. Santoni A, Darwis D, dan Syahri S. Isolasi antosianin dari buah Pucuk Merah (*Syzygium campanulatum* Kort.) serta pengujian antioksidan dan aplikasi sebagai pewarna alami. Prosiding Semirata FMIPA Universitas Lampung, 2013.
12. Pardila Y. Uji toksisitas akut ekstrak etanol daun Pucuk Merah (*Syzygium Myrtifolium* Walp.) terhadap Mencit Putih (*Mus musculus* L.) Jantan [Karya Tulis Ilmiah]. Pekanbaru: Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi Riau; 2015.
13. Novrita S. Pengaruh pemberian ekstrak etanol daun Pucuk Merah (*Syzygium myrtifolium* Walp.) terhadap kadar bilirubin Mencit Putih (*Mus musculus* L.) Jantan [Skripsi]. Pekanbaru: Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi Riau; 2016.
14. Permadi I. Pengaruh pemberian ekstrak etanol daun Pucuk Merah (*Syzygium myrtifolium* Walp.) terhadap kadar trigliserida mencit putih (*Mus musculus* L.) jantan. [Skripsi]. Pekanbaru: Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi Riau; 2016.
15. Direktorat Pengawasan Obat Tradisional. Parameter standar umum ekstrak tumbuhan obat, Edisi 1. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia; 2000.
16. Badan Pengawas Obat dan Makanan, Peraturan kepala badan 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. 2014.
17. Kaplan, A. dan L.L Szabo. Clinical chemistry: Interpretation and technique. Philadelphia: Lea and Febiger. 1979.
18. Anonim. Reference values for laboratory animals, normal hematology values, Research Animals Resources, University of Minnesota. 2009.
19. Bhagavan,N.V..Medical Biochemistry. 4th Ed. ed. Harcourt Academic Press. Canada. 2002.
20. Mescher, L.A.. Histologi dasar junqueira: Teks & Atlas Edisi 12. Penerbit Buku Kedokteran EGC. Jakarta. 2011.
21. Underwood, J.C.E. Patologi umum dan sistemik, Edisi 2. Penerbit Buku Kedokteran EGC. Jakarta.2002