

Studi Keamanan Ramuan Jamu untuk Hiperurisemia dan Hipertensi

STUDY ON SAFETY OF COMPOSITION OF HYPERURSEMIC AND HYPERTENSION JAMU

M. Wien Winarno^{1*}, Lucie Widowati², Dian Sundari¹

¹Pusat Biomedis dan Teknologi Dasar Kesehatan

Jl. Percetakan Negara No.23 Jakarta 10560, Indonesia

²Pusat Teknologi Terapan Kesehatan dan Epidemiologi Klinik

Jl. Dr. Sumeru No. 63 Bogor, Indonesia

Submitted : 29-8-2014, Revised 1 : 1-7-10-2014, Revised 2 : 4-11-2014, Accepted : 18-12-2014

Abstract

*Study on safety test (pre-clinic) of composition of hyperurismic and hypertension jamu has been done. Carried out as a laboratory experimental reseach, consists of accute toxicity test and subchronic toxicity test. Objective of the study was to gain value of oral accute toxicity value (LD₅₀) and abnormality on vital organ caused by the administration of both jamu composition in a long periods. Accute Toxicity test applied on 50 white rats (*Rattus norvegicus*), Wistar, divided into 5 dose groups on accute toxicity. As for subchronic toxicity test use 40 white rats were divided into 4 dose groups. Result of the study showed LD₅₀ value of hyperurismic composition >10,944 mg/200g bw or >54,720mg/kg bw. As for LD₅₀ value of hypertension composition > 10,038mg/200g bw or 50,190mg/kg bw. Both compositions can be considered as Practically non toxic (PNT) group. On subchronic toxicity test of hyperurismic composition with biggest dose (3,078 mg/200 g bw), in 90 days continuous administration, no failure was detected on blood liver and kidney function As well as with toxicity test of hypertension composition with dose of 3,564 mg/ 200 g bw in 90 days continuous administration.*

Keywords : Oral accute toxicity; subchronic toxicity; hyperurismic and hypertension jamu composition

Abstrak

Telah dilakukan penelitian untuk menguji keamanan (preklinik), ramuan hiperurisemia dan hipertensi. Dilaksanakan sebagai penelitian eksperimental laboratorium, meliputi uji toksisitas akut dan uji toksisitas subkronis. Tujuan dari penelitian ini untuk menentukan nilai toksisitas akut (LD₅₀) oral dan adanya kelainan pada organ penting pada pemberian kedua ramuan jamu dalam jangka panjang. Uji toksisitas akut menggunakan tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur *Wistar*, sebanyak 50 ekor yang dibagi dalam 5 kelompok dosis. Sedangkan pada uji toksisitas subkronik digunakan 40 ekor tikus putih yang dibagi dalam 4 kelompok dosis. Hasil penelitian didapatkan angka LD₅₀ ramuan hiperurisemia >10944 mg/200 g bb. atau > 54720 mg/kg bb; sedangkan angka LD₅₀ ramuan hipertensi >10038 mg/200 g bb. atau >50190 mg/kg bb. Kedua ramuan dapat dianggap termasuk ke dalam golongan bahan *Practically non toxic* (PNT). Pada uji toksisitas subkronis ramuan hiperurisemia dosis terbesar (3078 mg/200 g bb.), yang diberikan terus menerus selama 90 hari, tidak menimbulkan kelainan fungsi darah, hati dan ginjal. Begitu juga dengan ramuan hipertensi dosis 3564 mg/200 g bb. yang diberikan terus menerus selama 90 hari tidak menunjukkan kelainan pada fungsi darah, hati dan ginjal.

Kata kunci : Toksisitas akut oral; toksisitas subkronis; ramuan jamu hiperurisemia dan hipertensi

PENDAHULUAN

Penggunaan obat tradisional di Indonesia merupakan bagian dari budaya bangsa dan banyak dimanfaatkan masyarakat sejak berabad-abad yang lalu, namun demikian umumnya efektivitas dan keamanannya belum sepenuhnya didukung oleh penelitian yang memadai. Data terbanyak keamanan praklinik berasal dari tanaman tunggal, sedangkan dalam bentuk ramuan belum banyak data tersedia dan variasi ramuan sangat luas.

Dalam rangka saintifikasi jamu, telah dilakukan uji keamanan (preklinik) ramuan hiperurisemia dan ramuan hipertensi yang ditetapkan oleh Komnas Saintifikasi Jamu. Penelitian bertujuan untuk mendapatkan dukungan bukti ilmiah penggunaan jamu, antara lain data keamanan dan kemanfaatan jamu.

Peraturan internasional yang berkaitan dengan kesehatan manusia mengharuskan setiap obat farmasi baru, tidak kecuali obat tradisional, harus dilakukan uji toksisitas pada hewan terlebih dahulu sebelum diberikan kepada manusia. Uji toksisitas akut dan toksisitas subkronis, akan memberikan informasi awal tentang sifat beracun dari bahan-bahan yang digunakan dalam formulasi obat atau obat tradisional yang sebelumnya tidak ada informasinya¹. Dalam keadaan tertentu, informasi toksisitas akut digunakan dalam penentuan dosis penelitian, dosis terapi, serta secara akurat akan menjelaskan toksisitas tanaman obat. Sedangkan toksisitas subkronis akan menginformasikan keadaan patologis pada pengamatan makroskopik maupun mikroskopik pada organ sasaran setelah pemberian obat dalam jangka lama².

Berdasarkan penelusuran pustaka diketahui beberapa penelitian terhadap tanaman obat tersebut antara lain LD₅₀ ekstrak air meniran (*Phyllanthus niruri* L.) pada 5000 mg/kg bb, dan pemberian dosis 2000 mg/kg bb, tidak menimbulkan kelaian atau kerusakan pada darah dan organ tikus putih³. Ekstrak etanol daun kepel (*Stelechocarpus burahol* (Bl) Hook. F&TH) dosis 50 – 400 mg/kg bb. mempunyai efek antihiperurisemik yang potensial dan efeknya sama dengan allupurinol.⁴ Diduga kandungan flavonoidnya bersifat antihiperuresemia dan antioksidan. Temulawak pada dosis 6 ml-10 ml/kg bb dapat menurunkan kadar kolesterol total dan trigliserida pada kelinci, disamping itu kurkuminoid temulawak pada

dosis 10-20 mg/kg bb pada kelinci, pengaruh yang terlihat terutama pada dosis 20 mg berupa peningkatan HDL kolesterol darah. Di lain pihak kurkumin dari temulawak mampu menghambat agregasi trombosit pada dosis 100-300 mg/kg. Efek penurunan darah secara tidak langsung dari fraksi asam asetat dari seledri dapat menurunkan tekanan darah pada konsentrasi 20 – 40 % yang diberikan 8 ml/ekor⁵. Peneliti lain melaporkan LD₅₀ ekstrak alkohol temu lawak sebesar > 5000 mg/kg bb dan tidak menyebabkan kelainan fungsi hati dan ginjal⁶. Ekstrak methanol 50% daun kumis kucing (*Orthosipon stamineus* Benth) memberikan nilai LD₅₀ >5000 mg/kg bb. Disebutkan pula pemberian dosis 2000 g/kg bb., tidak menyebabkan kelainan pada darah, fungsi hati dan ginjal pada tikus putih⁷. Toksisitas akut ekstrak etanol *Centella asiatica* L. dilakukan pada mencit memberikan nilai LD₅₀ 13,6 g/kg bb. Toksisitas subkronis memberikan gambaran kerusakan pada hati dan ginjal yaitu terjadinya degenerasi parenkim, kongesti sinus pada hati, pada ginjal menyebabkan degenerasi sampai nekrosis pada glomerulus⁸. Penelitian subkronis rebusan daun tempuyung (*Soncus arvensis* L.) dosis 2,60 mg/kg bb. yang diberikan terus-menerus selama 90 hari pada tikus putih, relatif aman tidak menyebabkan gangguan fungsi hati dan ginjal⁹.

Telah dilakukan penelitian untuk menilai manfaat ramuan hiperurisemia dan ramuan hipertensi sebagai penurun asam urat dan penurun tekanan darah tinggi. Mengingat kedua penyakit yang diteliti adalah penyakit kronis, penggunaan kedua ramuan dilakukan dalam waktu yang lama, dapat menyebabkan hal yang tidak diinginkan terhadap organ tubuh. Dengan penggunaan terus menerus, keamanan suatu produk adalah hal yang paling penting untuk diketahui. Penelitian ini bertujuan memberikan landasan ilmiah toksisitas akut dan toksisitas subkronis ramuan hiperurisemia dan hipertensi.

Toksisitas akut dilakukan untuk menentukan nilai toksisitas akut (LD₅₀) yang akan memberikan gambaran besarnya daya racun suatu ramuan. Makin kecil nilai LD₅₀ suatu zat, makin besar daya racun zat tersebut. Toksisitas subkronis dilakukan untuk melihat gambaran kimia darah dengan mengukur jumlah sel darah merah, sel darah putih, kadar hemoglobin, hematokrit, serta gambaran biokimia darah dengan mengukur kadar SGPT, SGOT, ureum, kreatinin dan melihat gambaran

histopatologi organ jantung, ginjal, hati, dan usus.

BAHAN DAN METODE

Desain penelitian ini adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL), dengan jenis penelitian eksperimental laboratorium. Penelitian dilakukan di Laboratorium Hewan Coba, Pusat Biomedis dan Teknologi Dasar Kesehatan tahun 2011 dengan persetujuan etik dari komisi etik badan Litbangkes No. KE.01.05/EC/299/2011, tertanggal 6 Mei 2011.

Hewan uji

Hewan yang digunakan dalam penelitian ini adalah tikus putih galur *Wistar*, jantan dan betina umur 3 bulan, berat badan 160-180 gram. Asal hewan dari Laboratorium Hewan Coba, Pusat Biomedis dan Teknologi Dasar Kesehatan. Hewan diberi makan dan minum setiap hari ad libitum.

Estimasi besar sampel

Uji toksisitas akut oral untuk setiap ramuan memerlukan tikus putih sebanyak 25 ekor jantan dan 25 ekor betina. Toksisitas subkronis untuk setiap ramuan memerlukan tikus putih sebanyak 50 ekor jantan dan 50 ekor betina. Pengelompokan hewan percobaan dilakukan secara acak berdasarkan berat badannya.

Variabel

Variabel bebas meliputi tingkat dosis dari ramuan dan waktu. Variabel terikat untuk toksisitas akut oral, yaitu kematian dan berat badan. Untuk toksisitas subkronis yaitu berat badan, kimia darah, darah normal dan kelainan histopatologi.

Bahan dan cara kerja

Bahan uji yang digunakan, ramuan hiperurisemia dengan komposisi: daun tempuyung 2 g, kayu secang 5 g, daun kepel 3 g, rimpang temulawak 3 g, rimpang kunyit 3 g, herba meniran 3 g. (berat keseluruhan ramuan 19 g). Ramuan hipertensi dengan komposisi : herba seledri 5 g, herba pegagan 3 g, kumis kucing 5 g, rimpang temulawak 3 g, rimpang kunyit 3 g, herba meniran 3 g. (berat keseluruhan ramuan 22 g). Semua bahan uji diperoleh dari B2P2TOOT, Tawangmangu, Karanganyar, Jawa Tengah.

Pembuatan Bahan Uji¹⁰

Bahan diatas sesuai ramuan dan takaran, ditambahkan air 100 mL kemudian panaskan diatas tangas air selama 15 menit terhitung mulai suhu 90° C sambil sekali-sekali diaduk. Saring selagi panas dengan kain flanel, tambahkan air panas secukupnya melalui ampas hingga diperoleh volume infus volume 100 mL dan diuapkan dalam tangas pada suhu 60° C sampai didapatkan volume konsentrasi yang diinginkan. Untuk ramuan ramuan hiperurisemia diuapkan sampai didapatkan volume 7,2 mL dan ramuan hipertensi diuapkan sampai didapatkan volume 8,8 mL.

Uji toksisitas akut (LD₅₀)^{1, 11}

Prinsip pengujian adalah pemberian dosis tunggal suatu bahan uji secara oral yang dapat menyebabkan kematian 50% dari hewan yang dicoba dalam jangka waktu tertentu.

Sebelum percobaan dimulai, sebanyak 50 ekor tikus terdiri dari 25 ekor jantan dan 25 ekor betina dibagi dalam 5 kelompok dosis terdiri dari 5 ekor jantan dan 5 ekor betina ditempatkan didalam kandang polikarbonat, dan diaklimatisasi didalam ruang percobaan dengan suhu 27°C, selama 7 hari. Sebelum pemberian bahan uji, masing-masing hewan uji ditimbang.

Pengujian ramuan hiperurisemia, Kelompok I diberi ramuan uji dengan dosis 10944 mg/200 g bb; Kelompok II dosis 5472 mg/200 g bb; Kelompok III 2736 mg/200 g bb; Kelompok IV 1368 mg/200 g bb; dan kelompok V 684 mg/200 g bb.

Sedangkan ramuan hipertensi, Kelompok I diberi ramuan uji dengan dosis 10.038 mg/200 g bb; Kelompok II dosis 7128 mg/200 g bb; Kelompok III dosis 5091 mg/200 g bb; Kelompok IV dosis 3636 mg/200 g bb; dan Kelompok V dosis 2099 mg/200 g bb.

Observasi

Observasi dilakukan 6 jam setelah pemberian bahan uji, hewan diamati secara seksama terhadap adanya gejala toksik dan ada tidaknya kematian. Pengamatan meliputi : tingkah laku (aktivitas spontan, peka sentuhan, rasa nyeri); eksitasi sistem syaraf pusat (gejala strarub, melompat, tremor, konvulsi); sistem syaraf otonom (mata midriasis); refleks (refleks kornea, pinna).

Pengamatan dilanjutkan sampai 24 jam dan dicatat jumlah kematian dalam kelompok,

apabila terdapat kematian, maka semua hewan dikorbankan untuk dilakukan pemeriksaan histopatologi. Apabila tidak ada kematian, pengamatan dilanjutkan sampai 14 hari, dilakukan penimbangan bobot badan setiap hari, dicatat terjadinya gejala klinik atau toksik yang terjadi, dicatat jumlah kematian. Pada akhir penelitian, tikus yang masih hidup dilakukan pembiusan menggunakan ketamin 10 mg/kg bb, diotopsi dan dilakukan pengamatan secara makroskopis, selanjutnya dilakukan pemeriksaan histopatologi.

Uji toksisitas subkronis^{1,11}

Prinsip pengujian ini adalah melihat efek toksik ramuan dengan pemberian jangka panjang, menggunakan minimal 3 tingkatan dosis ramuan yang berbeda dan satu kelompok kontrol. Ketiga dosis ramuan, yaitu satu dosis yang tidak menimbulkan efek, satu dosis yang memberikan efek farmakologi dan satu dosis yang diperkirakan memperlihatkan efek toksik.

Sebelum percobaan dimulai, tikus diaklimatisasi didalam ruang percobaan dengan suhu 27°C, selama 7 hari dalam kandang polikarbonat berisi masing-masing 5 ekor. Tikus dikelompokkan secara acak, sehingga penyebaran berat badan merata untuk semua kelompok. Tikus dibagi dalam 8 kelompok, yang terdiri dari 4 kelompok jantan masing-masing 5 ekor dan 4 kelompok betina masing-masing 5 ekor. Sebelum pemberian bahan uji, masing-masing hewan uji ditimbang.

Pemberian bahan uji

Hewan dipuasakan selama 16 jam. Bahan uji diberikan secara oral setiap hari selama 45 hari dan 90 hari. Selama penelitian diamati kesehatan hewan, antara lain gejala-gejala umum atau kelainan yang dijumpai, seperti kejadian diare, tremor dan demam. Penimbangan berat badan dilakukan sebelum pemberian bahan uji, kemudian setiap minggu selama pemberian bahan uji.

Pengukuran gambaran darah meliputi sel darah merah, sel darah putih, hematokrit, hemoglobin, pemeriksaan kimia darah meliputi SGOT, SGPT (fungsi hati), ureum, kreatinin (fungsi ginjal). Pemeriksaan histopatologi dilakukan terhadap organ penting yaitu, hati, ginjal, jantung, dan usus.

Masa Recovery

Setelah masa observasi berakhir, sebagian

hewan uji dibiarkan hidup selama 2 minggu untuk mengetahui apakah sifat toksik bahan uji yang dipakai bersifat reversibel. Hewan uji yang dibiarkan hidup tersebut adalah yang diberi dosis terbesar dan kontrol.

Uji toksisitas subkronis selama 45 hari dan 90 hari

Uji toksisitas subkronis ramuan uresemia, 40 ekor tikus dibagi dalam 4 kelompok, meliputi : Kelompok I dosis 342 mg/200g bb; Kelompok II dosis 1026 mg/200 g bb; Kelompok III dosis 3078 mg/200 g bb; Kelompok IV kontrol (akuades). Sedangkan uji toksisitas subkronis ramuan hipertensi, 40 ekor tikus dibagi dalam 4 kelompok, meliputi; Kelompok I dosis 396 mg/200g bb; Kelompok II dosis 1188 mg/200 g bb; Kelompok III dosis 3564 mg/200 g bb; Kelompok IV kontrol (akuades). Semua kelompok diperlakukan selama 45 hari dan 90 hari, kemudian diambil darahnya untuk pemeriksaan kimia darah dan kimia darah kemudian tikus diautopsi dan diambil organ hati, ginjal, jantung dan usus. Sementara itu, hewan pada Kelompok V dosis terbesar (*recovery*), kedua ramuan tetap dibiarkan hidup selama 2 minggu, kemudian diperlakukan seperti kelompok I s/d IV.

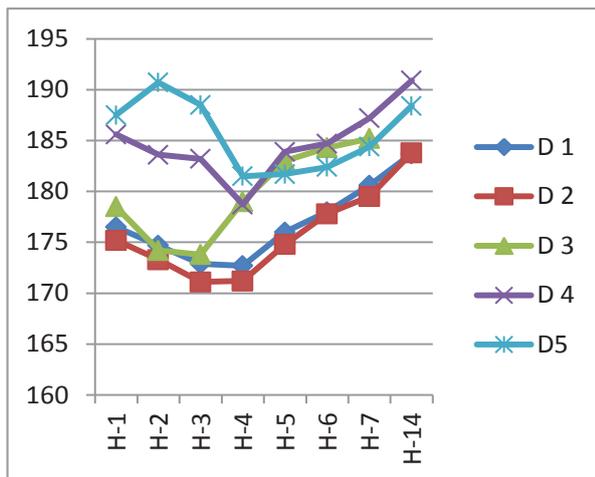
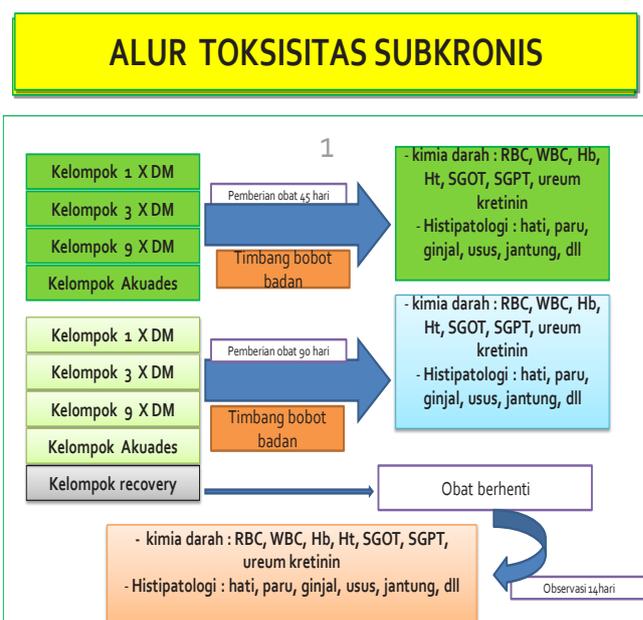
Setelah 45 hari dan 90 hari, hewan dipuasakan 16jam. Hewan dianestesi menggunakan ketamin 60 mg/kg bb, dan dilakukan pengambilan darah sebanyak 5 mL dari vena orbital dengan hati-hati menggunakan *capillar tube*. Darah dipisahkan untuk menjadi 2 tabung, untuk pemeriksaan kimia darah dan kimia darah. Darah untuk pemeriksaan kimia darah, disentrifugasi selama 10 menit pada kecepatan 3000 rpm, kemudian darah dan serum dipisahkan.

HASIL

Uji toksisitas akut

Pengamatan selama 6 jam setelah pemberian ramuan hiperurisemia terhadap aktifitas tikus (aktivitas spontan, peka sentuhan, rasa nyeri) dan eksitasi sistem saraf pusat (gejala Straub, melompat, tremor dan konvulsi). Hasil menunjukkan tidak terlihat gejala-gejala tersebut diatas. Semua tikus terlihat normal pada semua kelompok. Penimbangan berat badan tikus jantan dan betina merupakan selisih penimbangan setiap hari selama pengamatan 14 hari disajikan pada Gambar 1. dan Gambar 2.

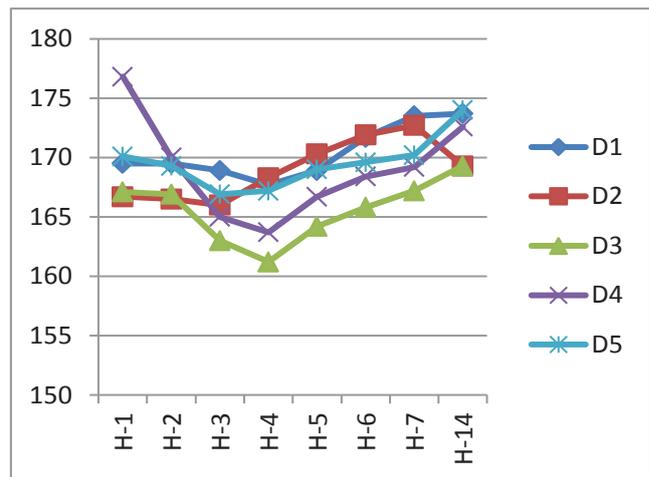
Alur uji toksisitas akut dan toksisitas sub kronik, dapat dilihat pada gambar dibawah ini.



Gambar 1. Rerata pertambahan berat badan ramuan hiperurisemia (dalam gram)

Terlihat pola yang sama pada kedua ramuan, terjadi penurunan berat badan sampai dengan hari ke 3, hari selanjutnya terlihat kecenderungan meningkat sampai dengan hari ke 14. Hal tersebut terlihat wajar karena pada hari ke 2 dan ke 3 hewan mengalami stres akibat perlakuan, sehingga terjadi kecenderungan penurunan berat badanya.

Pemberian ramuan hiperurisemia sampai dengan dosis 10944 mg/200 g bb. tidak menimbulkan kematian pada tikus dan didapatkan LD₅₀ >54720 mg/kg bb. (1000 g/200 g X 10944 mg). Pada pemberian ramuan hipertensi sampai dengan dosis



Gambar 2. Rerata pertambahan berat badan ramuan ramuan hiperurisemia (dalam gram)

10038 mg/200 g bb. tidak menimbulkan kematian pada tikus dan didapatkan LD₅₀ >50190 mg/kg bb. (1000 g/200 g X 10038 mg), kedua bahan ramuan dapat digolongkan sebagai bahan *Practically non toxic* (PNT).

Uji toksisitas subkronis

Pengukuran berat badan

Pemberian bahan uji ramuan hiperurisemia dosis 342 mg, 1026 mg, dan 3564 mg/200 g bb. yang diberikan terus-menerus selama 45 hari, terlihat pola penurunan berat badan sampai minggu ke-2 kemudian naik kembali hingga minggu ke-6.

Sedangkan pemberian dengan dosis yang sama yang diberikan terus menerus selama 90 hari, terlihat pola penurunan berat badan terjadi sampai minggu ke-2 dan kemudian naik kembali hingga minggu ke-12. Keadaan tersebut terjadi pada kelompok tikus jantan maupun betina.

Pemberian bahan uji ramuan hipertensi dosis 396 mg, 1188 mg, dan 3564 mg/200 g bb. yang diberikan terus-menerus selama 45 hari, terlihat pola penurunan berat badan terjadi pada minggu ke-1, kemudian naik kembali hingga minggu ke-6. Keadaan tersebut terjadi pada kelompok tikus jantan maupun betina. Pengukuran berat badan selama 90 hari pemberian bahan uji,

pola penurunan berat badan terjadi sampai minggu ke-1 dan kemudian naik kembali hingga minggu ke-12. Keadaan tersebut terjadi pada kelompok tikus jantan maupun betina.

Pengukuran gambaran kimia dan biokimia darah.

Pemberian bahan uji ramuan hiperurisemia dosis 342 mg, 1026 mg dan 3078 mg/kg bb. yang diberikan terus menerus selama 45 hari, tidak mempengaruhi keadaan sel darah merah, sel darah putih, Ht, Hb, ureum, kreatinin, SGPT dan SGOT dibanding kontrol (akuades) $P > 0.05$ seperti tersaji pada Tabel 1

Tabel 1. Rerata hasil pengukuran kimia darah dan kimia darah pada tikus jantan dan betina selama 45 hari pemberian ramuan hiperurisemia

Pengukuran	Kelompok Perlakuan			
	Dosis 342 mg/200 g bb.	Dosis 1026 mg/200 g bb.	Dosis 3078 mg/200 g bb.	Akuades
Sel darah merah (x106/ dL)	8,54 ± 1,16 a	8,78 ± 0,66 a	8,50 ± 0,73 a	8,82 ± 0,92 a
Sel darah putih (x103/dL)	8,50 ± 2,29 a	8,78 ± 2,50 a	9,92 ± 2,73 a	11,52 ± 3,72 a
Ht (%)	42,11 ± 4,97 a	43,83 ± 1,95 a	42,33 ± 1,57 a	42,23 ± 1,57 a
Hb (mg/dL)	15,10 ± 1,43 a	14,93 ± 0,81 a	14,57 ± 0,29 a	15,83 ± 0,89 a
Ureum (mg/dL)	44,07 ± 3,76 a	38,07 ± 3,47 a	31,54 ± 6,0 a	33,31 ± 4,42 a
Kreatinin (mg/dL)	0,85 ± 0,10 a	0,82 ± 0,06 a	0,77 ± 0,07 a	0,79 ± 0,04 a
SGOT (mg/dL)	178,58 ± 13,42 ab	180,27 ± 14,25 a	186,61 ± 14,38 a	165,53 ± 12,26 a
SGPT (mg/dL)	58,78 ± 6,35 a	63,49 ± 5,63 a	63,86 ± 7,15 a	58,05 ± 7,64 a

Keterangan : huruf yang sama pada kolom yang berbeda tidak berbeda nyata ($p > 0,05$)

Sedangkan pemberian bahan uji dengan dosis yang sama diberikan terus-menerus selama 90 hari, tersaji pada Tabel 2. Terlihat tidak mempengaruhi keadaan sel darah merah, sel darah putih, Ht, dan Hb, dan ureum dibanding kontrol (akuades) ($P > 0.05$), tetapi pada dosis 3078 mg/200 g bb. terjadi kenaikan kreatinin dan SGOT dibandingkan dengan kontrol akuades ($P < 0.05$).

Pada masa *recovery* terjadi perbaikan, yaitu tidak berpengaruh terhadap sel darah merah, sel darah putih, Ht, Hb, ureum, kreatinin, SGOT dan SGPT tidak ada perbedaan dengan kelompok kontrol ($P > 0.0$).

Pemberian bahan uji ramuan hipertensi dosis 396 mg, 1188 mg dan 3564 mg/kg bb. yang diberikan terus menerus selama 45 hari, tidak mempengaruhi keadaan sel darah merah, sel darah putih, Ht, Hb, ureum, kreatinin, SGPT dan SGOT dibandingkan dengan kontrol (akuades) ($P > 0.05$), seperti tersaji pada Tabel 3.

Sedangkan pemberian bahan uji dengan dosis yang sama diberikan terus-menerus selama 90 hari, tersaji pada Tabel 4. terlihat tidak mempengaruhi keadaan sel darah merah, sel darah putih, Ht, dan Hb, dan ureum, ureum, kreatinin, SGPT dan SGOT dibandingkan dengan kontrol

akuades (P>0.05). Pada kelompok *recovery* gambaran kimia darah dan biokimia darah tidak berpengaruh yaitu sel darah merah, sel darah putih, Ht, Hb, ureum, kreatinin, SGOT dan SGPT tidak ada perbedaan dengan semua kelompok (P>0.0).

Pada masa *recovery* terjadi perbaikan, yaitu tidak berpengaruh terhadap sel darah merah, sel darah putih, Ht, Hb, ureum, kreatinin, SGOT dan SGPT tidak ada perbedaan dengan kelompok kontrol (P>0.0).

Tabel 2. Rerata hasil pengukuran darah dan kimia darah pada tikus jantan dan betina selama 90 hari pemberian ramuan hiperurisemia

Pengukuran	Kelompok Perlakuan				
	Dosis 342 mg/200 g bb.	Dosis 1026 mg/200 g bb.	Dosis 3078 mg/200 g bb.	Akuades	Recovery
Sel darah merah (x106/dL)	8,05 ± 0,62 a	7,72 ± 0,52 a	8,09 ± 0,66 a	7,70 ± 0,5 a	7,85 ± 0,61 a
Sel darah putih (x103/dL)	10,61 ± 2,66 a	5,83 ± 3,12 a	8,43 ± 2,81 a	9,22 ± 3,64 a	9,00 ± 2,7 a
Ht (%)	14,98 ± 0,67 a	14,22 ± 0,63 a	14,76 ± 0,69 a	13,96 ± 1,66 a	14,26 ± 0,87 a
Hb (mg/dL)	43,75 ± 1,42 a	41,18 ± 0,87 a	43,65 ± 2,25 a	41,03 ± 6,23 a	42,45 ± 2,52 a
Ureum (mg/dL)	36,71 ± 6,47 a	39,46 ± 7,59 a	46,32 ± 5,08 a	37,85 ± 5,81 a	39,77 ± 9,76 a
Kreatinin (mg/dL)	0,97 ± 0,12 ab	0,97 ± 0,06 a	0,88 ± 0,09 ab	0,86 ± 0,07 ab	0,87 ± 0,10 b
SGOT (mg/dL)	181,27 ± 5,96 ab	165,05 ± 10,41 ab	177,58 ± 4,25 abc	167,72 ± 8,60 ab	159,26 ± 7,25 c
SGPT (mg/dL)	8,05 ± 0,62 a	61,58 ± 16,87 a	41,35 ± 28,55 a	63,72 ± 10,30 a	58,99 ± 8,05 a

Keterangan : huruf yang sama pada kolom yang berbeda tidak berbeda nyata (p>0,05)

Tabel 3. Rerata hasil pengukuran darah dan kimia darah pada tikus jantan dan betina selama 45 hari pemberian ramuan hipertensi

Pengukuran	Kelompok Perlakuan			
	Dosis 396 mg/200 g bb.	Dosis 1188 mg/200 g bb.	Dosis 3564 mg/200 g bb.	Akuades
Sel darah merah (x106/dL)	7,62 ± 0,83 a	7,82 ± 1,15 a	7,72 ± 1,04 a	7,61 ± 0,84 a
Sel darah putih (x103/dL)	8,01 ± 2,12 a	6,31 ± 0,82 a	6,43 ± 0,86 a	7,73 ± 0,98 a
Ht (%)	14,03 ± 0,71 a	14,40 ± 21,10 a	14,18 ± 1,03 a	13,58 ± 2,23 a
Hb (mg/dL)	41,92 ± 1,86 a	44,56 ± 7,16 a	41,88 ± 3,15 a	40,68 ± 7,61 a
Ureum (mg/dL)	37,76 ± 9,68 a	40,19 ± 6,51 a	33,10 ± 3,37 a	35,57 ± 5,70 a
Kreatinin (mg/dL)	0,82 ± 0,04 a	0,85 ± 0,06 a	0,78 ± 0,05 a	0,79 ± 0,05 a
SGOT (mg/dL)	169,81 ± 9,51 a	179,82 ± 7,04 a	180,72 ± 9,30 a	166,21 ± 8,63 a
SGPT (mg/dL)	50,55 ± 3,43 a	54,59 ± 4,67 a	55,75 ± 2,12 a	50,41 ± 4,00 a

Keterangan : huruf yang sama pada kolom yang berbeda tidak berbeda nyata (p>0,05)

Tabel 4. Rerata hasil pengukuran darah dan kimia darah pada tikus jantan dan betina selama 90 hari pemberian ramuan hipertensi

Pengukuran	Kelompok Perlakuan				
	Dosis 396 mg/200 g bb.	Dosis 1188 mg/200 g bb.	Dosis 3564 mg/200 g bb.	Akuades	Recovery
Sel darah merah (x106/dL)	7,88 ± 0,27 a	8,00 ± 0,50 a	7,66 ± 0,96 a	7,00 ± 1,28 a	7,66 ± 0,87 a
Sel darah putih (x103/dL)	6,05 ± 2,75 a	4,68 ± 0,61 a	5,90 ± 2,26 a	8,92 ± 1,32 a	5,46 ± 2,47 a
Ht (%)	14,41 ± 0,30 ab	14,68 ± 0,64 a	13,80 ± 1,44 ab	13,33 ± 1,85 b	14,13 ± 2,47 ab
Hb (mg/dL)	43,61 ± 0,80 a	44,83 ± 1,70 a	41,68 ± 3,57 ab	40,15 ± 5,59 b	42,76 ± 3,04 ab
Ureum (mg/dL)	35,09 ± 3,45 a	40,32 ± 7,57 a	30,76 ± 5,62 a	24,14 ± 7,43 b	28,23 ± 5,18 b
Kreatinin (mg/dL)	0,88 ± 0,04 a	0,84 ± 0,06 a	0,82 ± 0,07 a	0,82 ± 0,07 a	0,88 ± 0,1 a
SGOT (mg/dL)	143,83 ± 19,03 a	158,61 ± 23,27 a	151,73 ± 23,20 a	158,17 ± 22,23 a	135,86 ± 20,07 a
SGPT (mg/dL)	58,37 ± 4,08 a	51,83 ± 7,16 a	46,83 ± 6,90 a	51,31 ± 7,30 a	44,74 ± 9,39 a

Keterangan : huruf yang sama pada kolom yang berbeda tidak berbeda nyata (p>0,05)

Tabel 5. Hasil pemeriksaan histopatologi tikus jantan dan betina setelah pemberian ramuan hiperurisemia 45 hari, 90 hari dan Recovery

No.	Kelompok	Organ											
		Jantung			Ginjal			Hati			Usus		
		45 hari	90 hari	Reco very	45 hari	90 hari	Reco very	45 hari	90 hari	Reco very	45 hari	90 hari	Reco very
1.	342 mg /200 g	TKS	TKS	-									
2.	1.026 mg /200 g	TKS	TKS	-									
3.	3.078 mg /200 g	TKS	TKS	TKS	TKS	DTP	TKS	TKS	DP	TKS	TKS	TKS	TKS
4.	Akuades	TKS	TKS	-									

Keterangan : TKS (tidak terjadi kelainan spesifik); DTP (dilatasi tubulus proksimalis), DP (degenerasi parenkim)

Tabel 6. Hasil pemeriksaan histopatologi tikus jantan dan betina setelah pemberian ramuan hipertensi 40 hari, 90 hari dan Recovery

No.	Kelompok	Organ											
		Jantung			Ginjal			Hati			Usus		
		45 hari	90 hari	Reco very	45 hari	90 hari	Reco very	45 hari	90 hari	Reco very	45 hari	90 hari	Reco very
1.	396 mg / 200 g	TKS	TKS	-									
2.	1.118 mg /200 g	TKS	TKS	-									
3.	3.564 mg /200 g	TKS	TKS	TKS									
4.	Akuades	TKS	TKS	-									

Keterangan : TKS (tidak ada kelainan spesifik)

Gambaran histopatologi.

Pemeriksaan histopatologi sebagai penunjang hasil pemeriksaan kimia darah dan biokimia darah, selain itu untuk mengetahui dimana sifat toksik bahan pada organ-organ tubuh, disajikan pada Tabel 5 dan Tabel 6.

PEMBAHASAN

Ramuan hiperurisemia memberikan angka LD₅₀ >54720 mg/kg bb dan ramuan hipertensi angka LD₅₀ >50190 mg/kg bb, keduanya digolongkan sebagai bahan yang mempunyai sifat Practically non Toxic karena harganya > 15000 mg/kg bb. Harga LD₅₀ tersebut sesuai dengan penelitian beberapa tanaman yang digunakan dalam komposisi penyusun ramuan hiperuresemia, maupun hipertensi. Ekstrak etanol secang didapatkan LD₅₀ secang 44800 mg/kg bb, LD₅₀ ekstrak etil asetat tempuyung >15000 mg/kg bb, ekstrak air daun meniran LD₅₀ > 5000 mg/kg bb. dan ekstrak etanol kunyit didapatkan harga LD₅₀ > 15000 mg/kgbb., ekstrak etanol temulawak didapatkan LD₅₀ > 5000mg/kg bb. dan ekstrak methanol 50% kumis kucing LD₅₀ > 5000 mg/kg bb.^{3,6,7,12,14,15} Dalam bentuk sediaan ekstrak, diketahui sifat racun simplisia sepuluh kali lebih besar dari sifat racun simplisia dalam bentuk infusa atau rebusan. Disebutkan semua sediaan dalam bentuk ekstrak diatas mempunyai sifat *Practically non toxic*. Sifat daya racunnya tidak berubah setelah bahan tanaman disatukan dalam bentuk ramuan dan diberikan dalam bentuk rebusan.

Pada uji subkronik akan memberikan informasi yang bermanfaat tentang efek utama senyawa uji terhadap organ sasaran yang dipengaruhinya dan untuk mengetahui kondisi hewan selama penelitian berlangsung. Penurunan berat badan menandakan kondisi hewan sakit atau terjadinya gangguan dalam tubuh. Pengamatan perubahan berat badan minimal tujuh hari sekali merupakan keharusan.¹⁶

Pemberian bahan uji ramuan hiperurisemia selama 45 dan 90 hari kecenderungan penghambatan berat badan hanya sampai minggu ke-2. Untuk ramuan hipertensi kecenderungan dengan waktu pemberian yang sama penghambatan berat badan hanya sampai minggu ke-1. Penurunan berat badan menandakan kondisi hewan yang sakit atau terjadinya gangguan dalam tubuh. Pada kejadian diatas kedua ramuan hiperurisemia dan ramuan hipertensi tidak menyebabkan efek toksik dan tidak mempengaruhi atau menyebabkan hewan sakit, keadaan tersebut didukung gambaran darah. Pemberian ramuan hiperurisemia dan ramuan hipertensi dosis terbesarpun tidak mempengaruhi fungsi darah yaitu; darah merah, darah

putih, Hb dan Hematokrit, semuanya tidak berbeda dibandingkan dengan akuades. Seperti diketahui ramuan hiperurisemia dan hipertensi mengandung meniran, informasi penelitian menyebutkan ekstrak meniran dapat meningkatkan sistem imunitas pada tikus.¹² Dengan meningkatnya daya tahan tubuh menyebabkan hewan uji cepat pulih dari efek toksik ramuan yang tentunya akan memperbaiki metabolisme tubuh hewan.

Pemberian ramuan hiperuresimia pada semua dosis selama 45 hari, tidak mempengaruhi keadaan kimia dan biokimia darah, tetapi pada pemberian dosis 3078 mg/200 g bb. yang diberikan selama 90 hari, menyebabkan kenaikan kadar kreatinin dan serum GOT, keadaan tersebut sesuai dengan gambaran histopatologinya yaitu terjadi degenerasi parenkim pada parenkim hati, dan dilatasi tubulus proksimalis pada ginjal. Meniran terkandung dalam komposisi penyusun ramuan hiperurisemia, dilaporkan ekstrak air meniran tidak menurunkan sel darah merah, sel darah putih, Hb dan tidak mempengaruhi fungsi ginjal (ureum dan kreatinin normal)⁵. Ekstrak etanol kunyit 5 g/kg bb yang diberikan selama 6 bulan tidak berpengaruh terhadap fungsi hati, tetapi terjadi nekrosis pada pada tubulus ginjal¹². Terjadinya degenerasi parenkim hati dimungkinkan, meskipun dua bahan ramuan tidak mempengaruhi fungsi hati, tetapi ketika disatukan menjadi ramuan memungkinkan sifat toksiknya timbul, sehingga mempengaruhi fungsi hati dan ginjal. Ramuan hiperurisemia sifat toksiknya tidak menetap dalam tubuh, berangsur angsur menurun atau menghilang dalam 14 hari. Ramuan juga tidak mempengaruhi fungsi darah, hati dan ginjal sesuai dengan gambaran histopatologinya.

Pemberian ramuan hipertensi pada semua dosis selama 45 hari dan 90 hari, tidak menyebabkan kelainan fungsi darah, hati dan ginjal, keadaan tersebut sesuai dengan gambaran histopatologi tidak terjadi kelainan spesifik pada hati, ginjal, jantung dan usus. Beberapa penelitian tanaman penyusun ramuan hipertensi seperti; kumis kucing dilaporkan ekstrak methanol 50% kumis kucing tidak menurunkan sel darah merah, sel darah putih, Hb ureum dan kreatinin hal tersebut membuktikan tanaman tidak berpengaruh pada fungsi darah dan fungsi ginjal¹⁰. Peneliti lain melaporkan ekstrak air pegagan dosis besar menyebabkan kerusakan hati, ginjal dan jantung⁸. Keadaan tersebut berlawanan dengan hasil penelitian yaitu tidak menyebabkan kerusakan pada organ diatas. Kemungkinan dapat terjadi ketika tanaman bentuk tunggal mempunyai sifat toksik, tetapi ketika dicampur dengan tanaman yang lain (bentuk ramuan) efek toksiknya berkurang atau hilang. Ramuan hipertensi

sifat toksiknya tidak menetap dalam tubuh, berangsur-angsur menurun atau hilang dalam 14 hari. Ramuan juga tidak mempengaruhi fungsi darah, hati dan ginjal sesuai dengan gambaran histopatologinya.

KESIMPULAN

Uji toksisitas akut ramuan hiperurisemia sampai dengan pemberian dosis 10944 mg/200 g bb. tidak menimbulkan kematian dan didapatkan harga $LD_{50} > 54720$ mg/kg bb. dan ramuan hipertensi hingga pemberian 10038 mg/200 g bb. tidak menimbulkan kematian dan didapatkan $LD_{50} > 50190$ mg/kg bb. Kedua ramuan digolongkan dalam *Practically non toxic* (PNT).

Ramuan hiperurisemia dosis 3078 mg/200 g bb. yang diberikan terus-menerus selama 90 hari, tidak menyebabkan kelainan fungsi darah, hati dan ginjal. Sedangkan ramuan hipertensi dosis 3564 mg/200 g bb. yang diberikan terus-menerus selama 90 hari tidak menunjukkan kelainan pada fungsi darah, hati, dan ginjal.

Hendaknya kedua ramuan tetap diperhatikan dosis penggunaannya dalam jangka panjang, jangan melebihi 1,5 g/kg bb.

UCAPAN TERIMA KASIH

Disampaikan terima kasih atas kepercayaan yang diberikan oleh Kepala Badan Litbang Kesehatan, dalam melakukan penetapan keamanan jamu hiperurisemia dan hipertensi, sebagai data preklinik untuk uji klinik formula jamu hipertensi dan hiperurisemia. Juga disampaikan terima kasih disampaikan pada tim peneliti yang telah membantu dan bekerjasama dalam menyelesaikan penelitian ini.

DAFTAR RUJUKAN

1. Prema Veeraraghavan, Expert consultant, CPCSEA, Organization for Economic Cooperation and Development (OECD) Guideline no. 420; 2000.
2. NC3RS: 2007. National Centre for Replacement, Refinement, and Reduction of Animals in Research. 2007.
3. Geore A., Phyllis A., and Kwasi B. Acute Toxicity Studies of Aqueous Leaf Extract of *Phyllanthus niruri*. *Interdisciplinary Toxicology* December. 2011;4 (4)206-210.
4. Purwaningsih, Arif Rahman, Indah Purwantini. Antihyperuricemic Activity of the Kepele (*Stelechocarpus burahol* (Bl.) Hook. F&TH)

- Leaves Extract and Xanthine Oxidase Inhibitory Study. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 2010;2(1)
5. Bambang Wahjoedi, Sa'roni, Lucie Widowati, Yun Astuti, Pudjiatuti, Adjirni. Ali Chosin. *Kajian Potensi Tanaman Obat*. Jakarta:Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan. Pusat Penelitian Dan Pengembangan Farmasi dan Obat Tradisional, 2004.
6. Sutha D., Azadeh S.E., and Sabariah. *In vivo Toxicological Investigation of Standardized Ethanolic Extract of *Curcuma xanthorrhiza* Roxb. Rhizome*. *Natural Product Plants Resources*. 2013;3(1):67-73
7. Mun Fey Y., Chung Pin L., Lee Fung A, and Mariam A. Antioxidant and Toxicity Studies of 50% Methanolic Extract of *Orthosiphon stamineus* Benth. *Bio Med Research* Vol. 2013, Article ID 351602. Diperoleh dari : <http://dx.doi.org/10.1155/2013/351602>
8. Praptiwi. Toxicity Effect of *Centella asiatica* L. Extract on mice (*Mus musculus*) Organs and Tissue. *Indonesian Journal of Pharmacy*. 2010;21(1)
9. Diah D.D., Kosasih P., Iwang S., Andreanus A. Subchronic Toxicity Test of *Sonchus arvensis* Leaves Decoction as Herb Medicine for Bladder Stone Disease on Wistar Rat. Presented in International Conference on Biomedical Science 2012. School of Life and Technology-ITB, Indonesia Februari 27-28, 2012
10. Anonim. *Acuan Sediaan Herbal* Jakarta:Badan Pemeriksaan Obat dan Makanan RI. 2010;5(1)
11. Anonim. *Prosedur Operasional Baku Uji Toksisitas* Jakarta:Pusat Pemeriksaan Obat dan Makanan; 1991
12. Nathradee S., Vichien L., and Charin C. Acute and Subchronic Toxicity of Turmeric. *Bulletin Dep. Med Sci*. July - September 1990;32(3)
13. Sriningsih, Agung E.W. Efek imunostimulan ekstrak meniran (*Phyllanthus niruri* L.) secara *In vivo* pada Tikus. *Journal Bahan Alam*. 2009;7(1)
14. Yelvia N., Rini H., Elin Y., Kusnandar A. Acute and Subchronic Oral Toxicity Studies Ethyl Acetate Extract of *Sonchus arvensis* L. Leaves. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*. 2014;6(5)
15. Yun A., Oentoeng S. Toksisitas Akut dan Efek Pemberian ekstrak Etanol Kayu Secang (*Caesalpinia sappan* L.) terhadap Struktur Anatomi Tubulus Seminiferus Testis Tikus Putih. *Jurnal Bahan Alam*. Januari 2002;1(1)
16. Donatus, I.A. *Toksikologi Dasar, Laboratorium Farmakologi dan Toksikologi*, Yogyakarta:Fakultas Farmasi;2001.