

## TOKSISITAS SUBKRONIK EKSTRAK ETANOL DAUN JOHAR (*CASSIA SIAMEA* LAMK.) PADA TIKUS PUTIH\*

B.Wahjoedi\*\*, Pudjiastuti\*\*, B.Nuratmi\*\*, D.Sundari\*\*, A.Chozin\*\*

### ABSTRACT

#### **THE SUBCHRONIC TOXICITY STUDY OF THE ETHANOLIC EXTRACT OF *CASSIA SIAMEA* LAMK LEAF (DAUN JOHAR) ON ALBINO RATS**

*The Indonesian people still empirically use medicinal plants to overcome their diseases or maintain their health. One of the medicinal plants is *Cassia siamea* Lamk. (daun johar) used for treatment of fever as well as malaria. A lot of people usually use it for a long period of time. It is preferable for medicinal plants to have no effect rather than toxic effects.*

*Subchronic toxicity test of the 70% ethanolic extract of the leaf of *Cassia siamea* Lamk have been carried out on 72 male Sprague Dawley albino rats for 3 months. The administration of the test materials were orally, every day except Sunday and there were three kinds of different dosages respectively 9,8 mg/100 g b.w.; 48 mg/100 g b.w. and 240 mg/100 g b.w. which means equivalent to 1x; 5x and 25x the usual dose of man. The control group received water only.*

*The result showed that the 70% ethanolic extract of the leaf of *Cassia siamea* Lamk. administered orally every day until 3 months, the dose of up to 240 mg/100 g b.w. equivalent to 25x the usual dose of man didn't show toxicological effect on the internal body organs of the test animals such as liver, lung, heart, spleen, kidney and intestine. Other parameters such as SGOT, SGPT, Hb, Ureum and Creatinin of blood serum didn't show significant differences.*

### PENDAHULUAN

Penyakit malaria di Indonesia merupakan masalah kesehatan masyarakat yang cukup besar, sehingga program pemberantasannya mendapat prioritas tinggi<sup>1)</sup>. Beberapa tahun terakhir ini timbul resistensi *Plasmodium* terhadap beberapa obat anti-malaria modern<sup>2,3)</sup>. Beberapa senyawa diketahui dapat membunuh *Plasmodium* namun tidak meningkatkan secara nyata fungsi imun dari subyek terinfeksi. Akan sangat

berbahaya bila suatu bahan dapat membunuh *Plasmodium* dan bersamaan dengan itu akan menekan pula sel-sel imun dari subyek yang bersangkutan<sup>4)</sup>. Di samping itu ada tanaman obat yang secara empirik telah digunakan oleh sebagian masyarakat Indonesia sebagai obat malaria, yaitu daun Johar (*Cassia siamea* Lamk. Sin. *Cassia florida* Vahl.)<sup>5,6,7)</sup>. Tanaman johar merupakan salah satu tanaman dari famili Leguminosae, banyak dan mudah tumbuh di kepulauan Indonesia.

\* Penelitian ini dilakukan pada tahun anggaran 1997/1998 dengan Anggaran Pembangunan Badan Litbangkes Depkes RI Jakarta

\*\* Peneliti Puslitbang Farmasi, Badan Litbangkes, Depkes RI.

Berdasarkan hal-hal tersebut di atas telah dilakukan sejumlah penelitian dalam berbagai aspek pengembangan tanaman johan sebagai anti-malaria. Penelitian yang telah dilakukan antara lain toksistas akut ( $LD_{50}$ ), efek terhadap *Plasmodium berghei* *in vivo* pada mencit, antipiretik pada tikus putih, efek terhadap *Plasmodium falciparum* *in vitro*, fitokimia untuk mengetahui kandungan golongan kimia, dan penelitian formulasi<sup>8,9</sup>. Untuk memantapkan aspek keamanan pada obat, perlu dilakukan penelitian toksistas subkronik selama 3 bulan dari ekstrak etanol 70% dengan menggunakan hewan percobaan tikus putih.

## BAHAN DAN CARA

### Bahan

Daun johan diperoleh dari Balai Penelitian Tanaman Obat dan Rempah (Balitro) Departemen Pertanian, Bogor. Daun yang memenuhi syarat, dikeringkan dalam suhu tidak lebih dari 50° Celsius. Kemudian dibuat serbuk dengan ukuran ayakan Mesh 80. Serbuk yang telah diperoleh dibuat ekstrak etanol 70% dengan cara maserasi dan perkolasi, sesuai dengan metode yang berlaku dalam Farmakope Indonesia.

Tikus percobaan : galur Spraque Dawley, jantan, berat sekitar 150 g yang diperoleh dari Balai Pemeriksaan Obat dan Makanan, Ditjen POM, Jakarta.

### Cara

Penelitian toksistas subkronik ini menggunakan cara yang biasa digunakan di Laboratorium Farmakologi Eksperimental, Puslitbang Farmasi, Badan

Litbangkes, Jakarta dengan mengacu pada metode WHO<sup>9</sup>.

Ada 12 kelompok @ 6 ekor tikus putih. Pada setiap 4 kelompok, masing-masing diberi bahan percobaan 3 macam dosis bertingkat, masing-masing adalah 9,8 mg/100 g b.b (1x DM), 48 mg/100 g b.b (5x DM) dan 240 mg/100 g b.b (25x DM) dan akuades sebagai kontrol (catatan: DM = *Dosis Manusia*). Pemberian bahan ekstrak etanol setiap hari secara oral dan setiap minggu berat badan ditimbang. Setiap hari kondisi kesehatan hewan diperhatikan. Pada bulan ke-1, 2 dan 3 setelah pemberian bahan percobaan, masing-masing satu kelompok tikus yang menerima 3 macam dosis bertingkat dan akuades dikorbankan dan diotopsi, dilihat ada tidaknya kelainan secara makroskopik dari organ-organ penting tubuhnya. Kemudian organ-organ tersebut (*hati, jantung, paru, ginjal, usus dan limpa*) dibuat kupe histologi menggunakan cara standar dengan pewarnaan HE untuk memastikan ada tidaknya kelainan histopatologi. Pemeriksaan histopatologi dilakukan di Balai Penelitian Veteriner, Badan Litbang Pertanian, Bogor. Selain itu diperiksa juga biokimia darah tikus percobaan, antara lain *SGOT, SGPT, Hb, ureum dan kreatinin* di laboratorium PPOM Ditjen POM Jakarta.

## HASIL

Hasil percobaan toksistas subkronik ekstrak etanol 70% daun johan dapat dilihat dalam Tabel 1-6 berikut ini.

**Tabel 1. Hasil Pemeriksaan Makroskopik Organ-Organ Tikus Percobaan, Setelah 1 Bulan Pemberian Bahan Percobaan.**

Kelompok	Perlakuan	Keadaan organ					
		Jantung	Paru	Hati	Ginjal	Usus	Limpa
A	Akuades, 1mL/100gbb	N	N	N	N	N	N
B	Ekstrak, 1XDM	N	N	N	N	N	N
C	Ekstrak, 5XDM	N	N	N	N	N	N
D	Ekstrak, 25XDM	N	Pn (3/6)	N	N	N	N

Keterangan:

DM Dosis manusia

N Normal/tidak ditemukan kelainan

Pn Pneumoni

Cals Calcicosis

Sr Sarang radang

() Jumlah tikus yang mengalami kelainan per jumlah tikus satu kelompok

**Tabel 2. Hasil Pemeriksaan Makroskopik Organ-Organ Tikus Percobaan, Setelah 2 Bulan Pemberian Bahan Percobaan.**

Kelompok	Perlakuan	Keadaan organ					
		Jantung	Paru	Hati	Ginjal	Usus	Limpa
A	Akuades, 1mL/100gbb	N	Pn (1/6)	N	Sr (1/6)	N	N
B	Ekstrak, 1XDM	N	Pn (3/6)	N	Sr (2/6)	N	N
C	Ekstrak, 5XDM	N	Pn (1/6)	N	Sr (1/6)	N	N
D	Ekstrak, 25XDM	N	Pn (3/6)	N	N	N	N

Keterangan:

DM Dosis manusia

N Normal/tidak ditemukan kelainan

Pn Pneumoni

Cals Calcicosis

Sr Sarang radang

() Jumlah tikus yang mengalami kelainan per jumlah tikus satu kelompok

**Tabel 3. Hasil Pemeriksaan Makroskopik Organ-Organ Tikus Percobaan, Setelah 3 Bulan Pemberian Bahan Percobaan.**

Kelompok	Perlakuan	Keadaan organ					
		Jantung	Paru	Hati	Ginjal	Usus	Limpa
A	Akuades, 1mL/100gbb	N	Cals (1/6)	N	N	N	N
B	Ekstrak, 1XDM	N	Pn (1/6)	N	N	N	N
C	Ekstrak, 5XDM	N	N	N	N	N	N
D	Ekstrak, 25XDM	N	N	N	N	N	N

Keterangan:

- DM Dosis manusia  
 N Normal/tidak ditemukan kelainan  
 Pn Pneumoni  
 Cals Calsicosis  
 Sr Sarang radang  
 ( ) Jumlah tikus yang mengalami kelainan per jumlah tikus satu kelompok

**Tabel 4. Hasil Pemeriksaan Histopatologi Organ-Organ Tikus Percobaan, Setelah 1 Bulan Pemberian Bahan Percobaan.**

Kelompok	Perlakuan	Hasil
A	Akuades, 1mL/100gbb	Tidak ada perubahan yang spesifik ditemukan pada semua organ kecuali terjadi pembendungan ringan pada hati 2 ekor tikus
B	Ekstrak, 1XDM	Semua organ normal, kecuali pada semua tikus terjadi pembendungan dan degenerasi ringan pada hatinya.
C	Ekstrak, 5XDM	Semua organ normal kecuali terjadi degenerasi ringan (2 ekor) dan degenerasi sedang (4 ekor) pada hati.
D	Ekstrak, 25XDM	Semua organ normal kecuali terjadi degenerasi ringan (1 ekor) dan degenerasi sedang (5 ekor) pada hati.

**Tabel 5. Hasil Pemeriksaan Histopatologi Organ-Organ Tikus Percobaan, Setelah 2 Bulan Pemberian Bahan Percobaan.**

Kelompok	Perlakuan	Hasil
A	Akuades, 1mL/100gbb	Hampir semua organ yang diperiksa dalam keadaan normal, kecuali terjadi pembendungan dan degenerasi ringan (5 ekor) pada organ hati dan pneumoni interstitial kronik (1 ekor)
B	Ekstrak, 1XDM	Semua organ normal, kecuali terjadi pembendungan dan degenerasi ringan (4 ekor) pada hati. Pneumoni interstitial kronik (3 ekor).
C	Ekstrak, 5XDM	Semua organ normal, kecuali terjadi degenerasi ringan (1 ekor) dan degenerasi sedang (3 ekor) pada hati.
D	Ekstrak, 25XDM	Semua organ normal, kecuali terjadi degenerasi ringan (2 ekor) dan sedang (3 ekor) pada hati.

**Tabel 6. Hasil Pemeriksaan Histopatologi Organ-Organ Tikus Percobaan, Setelah 3 Bulan Pemberian Bahan Percobaan.**

Kelompok	Perlakuan	Hasil
A	Akuades, 1mL/100gbb	Tidak ada perubahan yang spesifik pada semua organ
B	Ekstrak, 1XDM	Semua organ normal kecuali terdapat pembendungan dan degenerasi hati ringan (1 ekor)
C	Ekstrak, 5XDM	Semua organ normal, kecuali terdapat degenerasi hati ringan (2 ekor) dan degenerasi hati sedang/agak berat (2 ekor).
D	Ekstrak, 25XDM	Semua organ normal, kecuali terdapat degenerasi hati ringan (5 ekor) dan nekrosis hati (1 ekor).

## PEMBAHASAN

Penyakit malaria merupakan suatu penyakit yang sukar diberantas karena beberapa alasan/sebab dengan berbagai upaya yang telah dilakukan. Lebih-lebih setelah terjadi resistensi *Plasmodium* terhadap beberapa obat anti-malaria modern, sehingga timbul pemikiran baru untuk mengadakan penelitian untuk mengembangkan tanaman johar yang sudah lama dipakai oleh sebagian masyarakat Indonesia dalam penanggulangan penyakit malaria ini.

Berbagai penelitian dan pengembangan terhadap tanaman johar ini telah

dilakukan, antara lain mengenai toksisitas akut, terhadap *Plasmodium berghei in vivo*, terhadap *Plasmodium falciparum in vitro*, terhadap efek antipiretik pada tikus, terhadap efek imunomodulator pada tikus percobaan, kandungan fitokimia dan terakhir adalah penelitian formulasi<sup>9)</sup>. Karena obat malaria biasanya digunakan dalam kurun waktu yang lama, maka setiap obat anti-malaria harus aman pemakaiannya untuk jangka panjang. Demikian juga terhadap pengembangan tanaman johar untuk anti-malaria harus tersedia data toksisitas subkronik untuk mengetahui efek yang ditimbulkan pada organ-organ penting tubuh pada hewan percobaan.

Dari hasil percobaan toksistas subkronik menggunakan tikus percobaan, ternyata pemeriksaan makroskopik berbagai organ tubuh (hati, jantung, ginjal, usus, paru dan limpa) setelah 1 bulan, 2 bulan dan 3 bulan pemberian ekstrak etanol 70% daun johar, tetap dalam keadaan normal (Tabel 1,2,3). Demikian juga hasil pemeriksaan mikroskopik/histopatologik setelah 1 bulan, 2 bulan dan 3 bulan pemberian bahan percobaan, masih dalam batas-batas normal (Tabel 4,5,6).

Ada beberapa hal yang perlu dijelaskan atau diterangkan di sini bahwa degenerasi hati yang ringan sampai sedang seperti yang ditemukan pada tikus percobaan tersebut, sering ditemukan pada hewan yang secara klinis normal. Pneumoni yang ditemukan pada kelompok yang menerima bahan uji maupun kontrol, merupakan sesuatu yang sering ditemukan pada hewan percobaan tikus. Hal ini mungkin dikarenakan pengaruh kelembaban *bedding* kandang tikus yang dapat disebabkan oleh air minum yang tumpah maupun urin tikus percobaan. Demikian juga terjadinya radang pada beberapa organ dari beberapa ekor tikus lebih disebabkan oleh infeksi sebelum atau selama percobaan berlangsung yang tidak ada kaitannya dengan bahan uji, karena ditemukan tidak hanya pada kelompok yang menerima bahan uji tetapi juga yang menerima akuades sebagai kontrol.

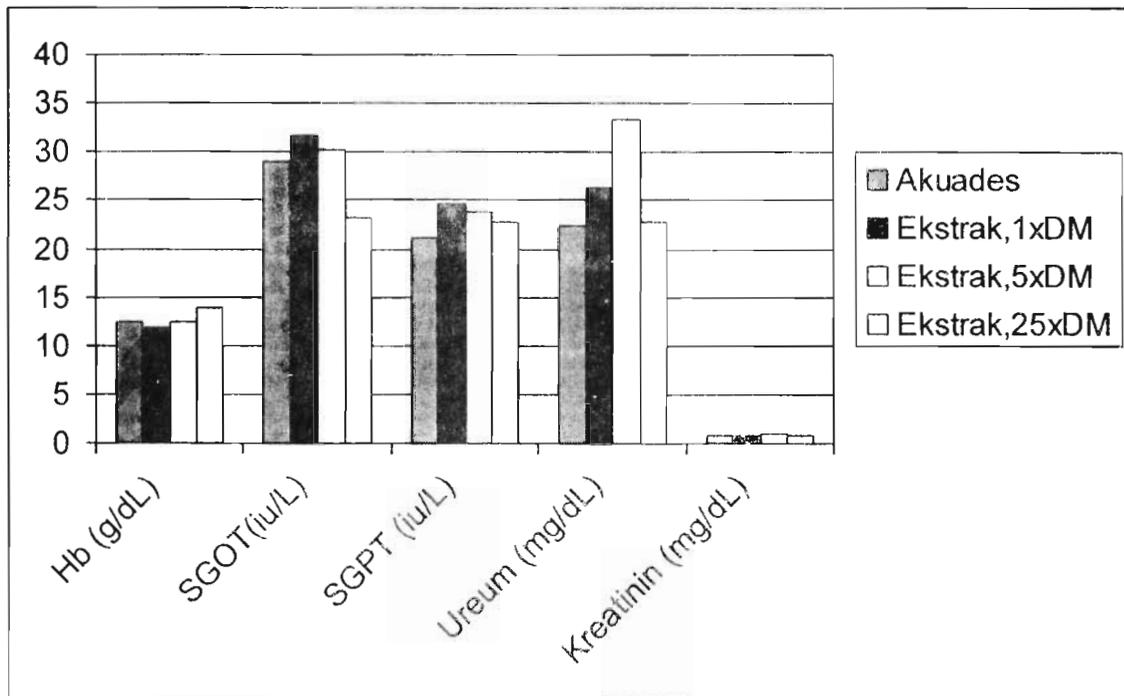
Hasil pemeriksaan profil darah berupa Hb, SGOT, SGPT, ureum dan kreatinin, ternyata tidak terlihat perbedaan antara kelompok yang diberi bahan uji ekstrak etanol 70% dan yang menerima akuades (Grafik 1). Pemeriksaan profil darah ini dilakukan karena sebelum organ-organ tubuh mengalami perubahan yang nyata sudah dapat dipastikan terjadi

perubahan lebih dulu pada biokimia darahnya.

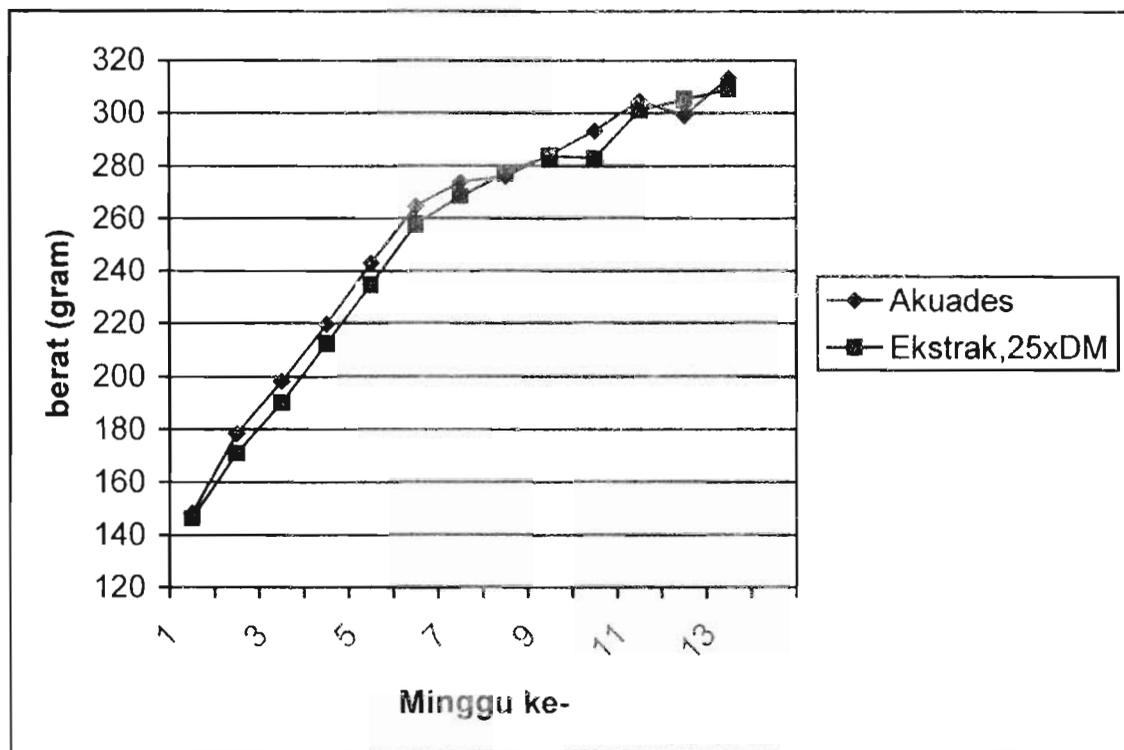
Dari pengamatan penimbangan bobot badan tikus percobaan selama 3 bulan, ternyata tidak mengalami penurunan malahan sebaliknya naik, hal ini menunjukkan bahwa hewan percobaan tetap sehat selama digunakan dalam percobaan (Grafik 2).

Untuk membandingkan hasil percobaan ini dengan hasil percobaan terdahulu yaitu percobaan toksistas subkronik menggunakan infus daun johar sebagai bahan percobaan, terlihat bahwa sediaan infus sampai dengan dosis 50 x dosis manusia (DM) (setara dengan 500 mg serbuk/100 g bobot badan tikus) tidak menunjukkan efek beracun<sup>11</sup>). Apabila rendemen ekstrak etanol 70% daun johar sebesar 14,6% berarti 500 mg serbuk setara dengan 73 mg ekstrak, dengan kata lain dosis pada percobaan menggunakan bahan infus tersebut di atas (50 x DM) masih lebih rendah dibandingkan dengan percobaan menggunakan ekstrak etanol 70% dengan dosis 25 x DM.

Jadi secara keseluruhan hasil percobaan toksistas subkronik ekstrak etanol 70% daun johar yang diberikan kepada tikus percobaan secara oral setiap hari selama 3 bulan, pada dosis sampai dengan 25x Dosis Manusia (ekivalen dengan 240 mg/100 g berat badan tikus) tidak menunjukkan keracunan atau kelainan organ-organ penting tubuh, antara lain: *jantung, paru, hati, lambung/usus dan limpa*. Demikian juga tidak terlihat perbedaan yang nyata hasil pemeriksaan SGOT, SGPT, Hb, ureum dan kreatinin antara kelompok tikus kontrol dan kelompok tikus yang diberi bahan percobaan.



Grafik 1. Hasil (Rata-rata) Pemeriksaan Biokimia Darah Tikus Percobaan.



Grafik 2. Berat Badan (Rata-rata dalam Gram) Tikus Percobaan, Selama 3 Bulan.

## KESIMPULAN

Ekstrak etanol 70% daun johar (*Cassia siamea* Lamk.) sampai dengan dosis 240 mg/100 g b.b atau setara dengan 25 x dosis lazim orang yang diberikan secara oral terus-menerus selama 3 bulan kepada tikus percobaan, tidak menimbulkan efek keracunan.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih ditujukan kepada Tim Pembina Ilmiah Puslitbang Farmasi, Badan Litbangkes Depkes RI, atas semua pemikiran dan masukan sejak perencanaan sampai selesainya penelitian ini.

## DAFTAR RUJUKAN

1. Badan Litbangkes (1992). TOR Pertemuan Koordinasi Penelitian Malaria di Ciloto, 3-4 Maret 1992.
2. Emilia et al (1992). Penelitian Obat Antimalaria dan Klmis Malaria, Pertemuan Koordinasi Penelitian Malaria di Ciloto, 3-4 Maret 1992.
3. Sahat, O. et al (1992). Penelitian Epidemiologi, Pemberantasan dan Pencegahan Malaria, Pertemuan

Koordinasi Penelitian Malaria di Ciloto, 3-4 Maret 1992.

4. Moch. Sadikin, DR.Dr.(1995). Bagian Biokimia FKUI, Jakarta.
5. Mardisiswojo, S., Radjakmangunsudarso,H.(1975). Cabe Puyang Warisan Nenek Moyang, PT Karya Wreda.
6. Dzulknain, B. et al (1992). Laporan Penelitian Pendahuluan Beberapa Tanaman Terhadap *Plasmodium berghei* Pada Mencit. Puslitbang Farmasi, Badan Litbangkes.Depkes R.I.
7. Gleaser,M. et al (1989). Antimalarial Effect of Eight African Malarial Plants. J.Ethnopharmacol., Feb.52(1) :115-116.
8. Wahjoedi,B. (1996). Laporan Penelitian Pengembangan Tanaman Johar (*Cassia siamea* Lamk.) Sebagai Antimalaria Dalam Berbagai Aspek (Tahap I). Puslitbang Farmasi, Badan Litbangkes Depkes R.I.
9. Wahjoedi,B. dan Chozin,A. (1997). Laporan Penelitian Dalam Berbagai Aspek Pengembangan Tanaman Johar (*Cassia siamea* Lamk.) Sebagai Antimalaria.(Tahap II), Puslitbang Farmasi, Badan Litbangkes Depkes R.I.
10. WHO (1975). General Guide To Period of Administration in Toxicological Studies. Technical Report Series No.563 :22.
11. Wahjoedi, B. et al (1996). Penelitian Toksistas Subkronik Infus Daun Johar (*Cassia siamea* Lamk.) Pada Tikus Putih., Buletin Penelitian Kesehatan. Vol 24, No. 4 , h:52—59.