

Uji toksisitas akut ekstrak etanol kulit buah jengkol (*Archidendron pauciflorum*) terhadap tikus Wistar betina

Acute toxicity test of ethanol extract of djenkols (*Archidendron pauciflorum*) fruit peel against female Wistar rat

MADIHAH[✉], NINING RATNINGSIH, DESAK MADE MALINI, ADELA HANI FAIZA, JOHAN ISKANDAR

Departemen Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Padjadjaran, Jl. Raya Bandung-Sumedang Km 21 Jatinangor, Sumedang 45363, Jawa Barat. Tel./Fax. +62-22- 7796412, ✉email: madihah@unpad.ac.id.

Manuskrip diterima: 26 Agustus 2016. Revisi disetujui: 31 Januari 2017.

Abstrak. Madihah, Ratningsih N, Malini DM, Faiza AH, Iskandar J. 2017. Uji toksisitas akut ekstrak etanol kulit buah jengkol (*Archidendron pauciflorum*) terhadap tikus Wistar betina. *Pros Sem Nas Masy Biodiv Indon 3*: 33-38. Ekstrak etanol kulit buah jengkol (*Archidendron pauciflorum* (Benth.) I. C. Nielsen) teruji dapat menurunkan kadar gula darah pada tikus hiperglikemik dengan dosis efektif 1500 mg/kg BB. Langkah uji pra klinis selanjutnya dalam pengembangan potensi ekstrak etanol kulit buah jengkol sebagai bahan baku herbal antidiabetes adalah uji toksisitas akut. Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan *lethal dose* 50 (LD₅₀) dari ekstrak etanol kulit buah jengkol dan mengamati histopatologi organ hati yang disebabkan oleh toksisitas ekstrak tersebut. Metode uji toksisitas akut diadaptasi dari panduan OECD 423:2001 dengan batas bawah dosis sebesar 5000 mg/kg BB. Substansi uji diberikan secara oral pada hewan uji berupa tikus (*Rattus norvegicus* Berkenhout, 1769) Wistar betina dengan dosis tunggal 5500, 6900, 8200, 9100, 12900, dan 17500 mg/kg BB. Gejala toksisitas, perubahan berat badan, dan jumlah hewan uji yang mati diamati selama 14 hari, sedangkan histopatologi pada organ hati diamati pada hewan uji yang mati dan yang hidup setelah periode uji selesai. Hasil penelitian menunjukkan bahwa perlakuan ekstrak etanol kulit buah jengkol hingga dosis 9100 mg/kg BB tidak menimbulkan gejala toksisitas dan penurunan berat badan. Berdasarkan hasil analisis Probit, nilai LD₅₀ dari ekstrak etanol kulit buah jengkol diprediksi mencapai 15382,412 mg/kg BB, sehingga termasuk ke dalam kategori praktis tidak toksik. Nilai *Lowest Observed Adverse Effect Level* (LOAEL) dideteksi pada dosis 5500 mg/kg BB yang menyebabkan kerusakan ringan jaringan hati, berupa nekrosis pada hepatosit dan pelebaran diameter vena sentralis, namun susunan hepatosit dan sinusoid masih normal. Oleh karena itu, dapat disimpulkan bahwa penggunaan ekstrak kulit buah jengkol di bawah dosis 5500 mg/kg BB bersifat aman, sehingga dapat dikembangkan sebagai obat herbal terstandarisasi untuk mengatasi diabetes.

Kata kunci: Antidiabetes, berat badan, histopatologis hati, kulit buah jengkol, LD₅₀, toksisitas

Abstract. Madihah, Ratningsih N, Malini DM, Faiza AH, Iskandar J. 2017. Acute toxicity test of ethanol extract of djenkols (*Archidendron pauciflorum*) fruit peel against female Wistar rat. *Pros Sem Nas Masy Biodiv Indon 3*: 33-38. Ethanol extract of djenkol (*Archidendron pauciflorum* (Benth.) I. C. Nielsen) fruit peel at a dose 150 mg/kg BW has been shown to decrease blood glucose level in hyperglycemic rats. The next preclinical step in the development of djenkol as antidiabetic herbal medicine is acute toxicity test. The purposes of this study were to obtain the lethal dose 50 (LD₅₀) of ethanol extract djenkol fruit peel and to observe the histopathology of rat liver as the result of the toxicity. Acute toxicity test method was adapted from OECD 423:2001 guideline and the limit dose was 5000 mg/kg bb. The animals (female Wistar, *Rattus norvegicus* Berkenhout, 1769) were orally administered a single dose of the extract at 5500, 6900, 8200, 9100, 12900, and 17500 mg/kg BW. Symptoms of toxicity, weight change, and mortality were noted for 14 days, whereas liver histopathology was observing at the end of test periods. The result showed that ethanol extract of djengkol fruit peel treatment up to dose 9100 mg/kg BW did not cause symptoms of toxicity and weight loss. Probit analysis of the mortality estimated that the LD₅₀ was 15.382,412 mg/kg BW, thus categorized as a practically nontoxic substance. Lowest observed adverse effect level (LOAEL) was detected at dose 5.500 mg/kg BW, which caused mild damage to liver tissue, in the form of necrosis of hepatocytes and widening of central vein diameter, but the arrangement of hepatocytes and sinusoids were normal. Therefore, it can be concluded that the use of ethanol extract of djenkol fruit peel under dose 5500 mg/kg BW was safe to be used, so it can be developed as standardized herbal medicine for anti-diabetes.

Keywords: Anti-diabetes, djengkol fruit peel, LD₅₀, liver histopathology, weight gain, toxicity

PENDAHULUAN

Saat ini, penelitian mengenai penggunaan obat tradisional, termasuk obat herbal, berkembang semakin

pesat, hal tersebut juga direkomendasikan oleh organisasi kesehatan dunia (WHO) untuk memelihara kesehatan masyarakat, mencegah dan pengobatan penyakit, terutama penyakit degeneratif, misalnya diabetes dan kanker

(Patwardhan 2005). Salah satu jenis tumbuhan yang digunakan oleh masyarakat sebagai obat herbal untuk mengatasi diabetes adalah *Archidendron pauciflorum* (Benth.) I. C. Nielsen (Fabaceae, sinonim: *Pithecellobium jiringa*, *Archidendron jiringa*) yang berasal dari Asia Tenggara dan secara lokal di Indonesia dikenal sebagai jengkol. Menurut Hutapea (1994), biji, kulit biji, kulit batang, kulit buah, dan daun jengkol mengandung beberapa senyawa kimia, diantaranya saponin, flavonoid, dan tanin. Kulit buah jengkol diketahui mengandung alkaloid, flavonoid, tanin, kuinon, polifenol (Syafnir et al. 2014), saponin, glikosida, dan steroid (triterpenoid) (Wahyuni et al. 2012). Oleh karena kandungan senyawa-senyawa kimia tersebut maka jengkol memiliki potensi sebagai bahan obat. Senyawa saponin, flavonoid, dan tanin telah teruji dapat menurunkan kadar gula darah (Liu et al. 2005; Lu et al. 2008; Velayutham et al. 2012; Babu et al. 2013). Hasil penelitian Syafnir et al. (2014) menunjukkan bahwa ekstrak etanol dari kulit buah jengkol dengan dosis 1500 mg/kg BB dapat menurunkan kadar gula darah tikus hiperglikemik akibat diabetes. Oleh karena itu, kulit buah jengkol memiliki potensi untuk dikembangkan sebagai bahan baku obat antidiabetes.

Bahan baku herbal maupun sintesis harus dipastikan keamanannya sebelum dapat digunakan sebagai obat. Tahapan penting dalam memastikan keamanan obat adalah melakukan uji toksisitas terhadap hewan model yang sesuai, dimana uji toksisitas akut merupakan salah satu uji utama yang harus dilakukan (Bhardwaj dan Gupta 2012; Schuppan et al. 2014). Penelitian ini dilakukan untuk mengevaluasi efek toksik akut dari ekstrak etanol kulit buah jengkol sebelum diaplikasikan sebagai obat herbal antidiabetes. Dari hasil penelitian Shukri et al. (2011) diketahui adanya efek toksik dari biji jengkol yaitu hipertropi dan lesi pada jantung, ginjal, hati, paru-paru, dan pankreas dari tikus Wistar yang diberi pakan dengan tambahan 50 g ekstrak biji jengkol/kg pakan. Namun, Syafnir et al. (2014) tidak melaporkan adanya kematian pada tikus Wistar yang diberi perlakuan ekstrak etanol kulit buah jengkol pada dosis 1500 mg/kg BB. Hal ini menunjukkan adanya potensi efek toksik dari konsumsi kulit buah jengkol dengan dosis tinggi yang diduga disebabkan adanya kesamaan fitokimia di antara biji dan kulit buah jengkol. Oleh sebab itu, tujuan dari penelitian ini adalah untuk mendapatkan *lethal dose* 50 (LD₅₀) dari ekstrak etanol kulit buah jengkol dan dosis terendah yang dapat menyebabkan kerusakan organ hati yang disebabkan oleh toksisitas ekstrak kulit buah jengkol (LOAEL).

BAHAN DAN METODE

Bahan penelitian

Pada penelitian ini, bahan uji yang digunakan berupa kulit buah jengkol (*Archidendron pauciflorum*) dari limbah pasar dan domestik. Kulit buah jengkol yang telah dibersihkan kemudian dipotong-potong, dikeringkan, dan dihancurkan hingga membentuk serbuk yang selanjutnya dimaserasi dalam etanol 70% dan dievaporasi hingga dihasilkan ekstrak dalam bentuk pasta. Hewan uji yang

digunakan adalah tikus (*Rattus norvegicus*) betina galur Wistar yang diperoleh dan dipelihara di Departemen Biologi, FMIPA Unpad. Tikus diberi pakan berupa butiran CP 551 (PT. Charoen Pokphand Indonesia), diberi minum air ledeng secara *ad libitum*, serta dipelihara dalam kandang dengan diberi sekam padi pada dasar kandang. Pencahayaan di dalam kandang dikontrol untuk menciptakan siklus 12 jam terang dan 12 jam gelap dalam setiap periode 24 jam. Kebersihan kandang dijaga dengan cara mengganti alas sekam dua kali seminggu. Suhu di dalam ruang pemeliharaan berkisar antara 23-32°C. Zat kimia yang digunakan adalah *carborxmethyl cellulose* (CMC), etanol 96% (teknis), serta bahan-bahan kimia untuk pembuatan sediaan histologis organ hati dengan metode parafin dan pewarnaan Hematoksin-Eosin dari Merck.

Metode penelitian

Penelitian ini menggunakan metode uji hayati dengan uji toksisitas akut yang dilakukan dengan mengacu pada pedoman *Organization for Economic Co-operation and Development* (OECD) 423: *Guideline for Testing of Chemicals - Acute Oral Toxicity* (2001). Subjek penelitian dibagi menjadi kelompok kontrol dan kelompok perlakuan. Uji toksisitas ekstrak etanol kulit buah jengkol diawali dengan uji pendahuluan (*limit test*) dan dilanjutkan dengan uji utama (*main test*) yang masing-masing terdiri atas lima ekor hewan uji.

Uji toksisitas akut

Uji toksisitas akut dilakukan dengan menggunakan tikus betina galur Wistar dewasa muda, tidak bunting, dan memiliki berat badan 110-180 g. Tikus betina dipilih karena memiliki sensitivitas lebih tinggi terhadap perlakuan. Uji pendahuluan dilakukan untuk menentukan batas bawah dari dosis ekstrak kulit buah jengkol yang akan diberikan pada uji utama. Dosis yang diberikan pada uji pendahuluan adalah 2000 dan 5000 mg/kg BB. Pemberian ekstrak dilakukan secara oral menggunakan sonde lambung. Ekstrak dilarutkan dalam larutan CMC 0,05% dan diberikan dalam volume tidak lebih dari 2 ml/berat badan tikus. Sebelum perlakuan, hewan uji dipuaskan selama kurang lebih 8 jam dan hanya diberi minum. Hasil uji pendahuluan menunjukkan tidak ada hewan uji yang mati pada dosis 5000 mg/kg BB, sehingga dosis yang digunakan untuk uji utama lebih tinggi.

Uji utama dilakukan untuk menentukan nilai LD₅₀ dari ekstrak kulit buah jengkol dengan dosis bertingkat mulai dari 5500 mg/kg BB dan jika tidak ditemukan lebih dari tiga ekor hewan uji yang mati maka dosis ditingkatkan menurut Annex 2 pada pedoman OECD 423 (2001) hingga ditemukan tiga atau lebih hewan uji yang mati dari setiap dosis perlakuan. Pada penelitian ini, dosis yang digunakan untuk uji utama adalah 0, 5500, 6900, 8200, 9100, 12900, dan 17500 mg/kg BB. Masing-masing perlakuan terdiri atas lima ekor hewan uji.

Hewan uji diamati secara individual setidaknya satu kali selama 30 menit pertama dan berikutnya hingga 24 jam dengan pengamatan khusus dilakukan pada 4 jam pertama pasca perlakuan. Selanjutnya, pengamatan gejala

toksisitas dan perubahan berat badan dilakukan setiap hari selama 14 hari. Jika terdapat hewan uji yang mati, waktu kematian dicatat dan data nekropsis diambil. Pada hari ke-15, hewan uji yang selamat dikorbankan untuk diambil organ hatinya, kemudian difiksasi dalam larutan Bouin. Sediaan histologis hati dilakukan dengan metode parafin dan pewarnaan Hematoksin-Eosin (Humason 1979) dengan modifikasi.

Analisis data

Nilai *Lethal Dose 50* (LD_{50}) dari uji utama diperoleh berdasarkan analisis Probit. Data perubahan berat badan dianalisis menggunakan ANAVA pada taraf kepercayaan 95% dan jika terdapat pengaruh yang nyata maka dilanjutkan dengan Uji Jarak Berganda Duncan.

Derajat kerusakan organ hati diberi skor 0-3 berdasarkan struktur hepatosit (nukleus, sitoplasma, susunan), vena sentralis, dan sinusoid. Rincian ciri-ciri setiap skor disajikan dalam Tabel 1. Pengamatan dilakukan terhadap 5 lapang pandang dari 3 ulangan per perlakuan. Hasil pemberian skor dianalisis dengan uji Kruskal-Wallis untuk mengetahui adanya tidaknya pengaruh toksisitas terhadap histopatologi hati dan *Multiple Comparison* untuk mengetahui beda nyata antar perlakuan (Sudjana, 2012). Semua data dianalisis menggunakan program SPSS versi 17.0.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Toksisitas akut ekstrak etanol kulit buah jengkol terhadap tikus Wistar betina

Hasil uji pendahuluan tidak menunjukkan adanya kematian tikus pada dosis 2000 dan 5000 mg/kg BB. Oleh sebab itu, dosis perlakuan yang digunakan pada uji utama lebih dari 5000 mg/kg BB sesuai dengan tabel prognosis dosis berdasarkan panduan OECD 423 (2001) yaitu 5500, 6900, 8200, 9100, 12900, dan 17500 mg/kg BB dan satu kelompok kontrol yang hanya diberi larutan CMC 0,5%. Hasil dari uji utama menunjukkan bahwa perlakuan ekstrak kulit buah jengkol dengan dosis 0-9100 mg/kg BB tidak menyebabkan kematian pada hewan uji, sedangkan perlakuan dengan dosis 12900 dan 17500 mg/kg BB secara berturut-turut menyebabkan kematian hewan uji sebanyak dua dan tiga ekor. Dengan demikian, nilai LD_{50} diperkirakan berada pada rentang dosis 12900 dan 17500 mg/kg BB. Berdasarkan hasil analisis Probit, nilai LD_{50} sekitar 15382,412 mg/kg BB. Dalam klasifikasi toksisitas menurut Lu (2002), nilai tersebut termasuk ke dalam kategori praktis tidak toksik (>15000 mg/kg BB). Oleh

karena itu, dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol kulit buah jengkol sebagai bahan baku herbal antidiabetes dengan dosis efektif 1500 mg/kg BB, seperti yang dilaporkan oleh Syafnir et al. (2012), bersifat aman dan dapat dikembangkan sebagai obat herbal terstandarisasi.

Perlakuan hingga dosis 9100 mg/kg BB selain tidak menyebabkan kematian, juga tidak menyebabkan timbulnya gejala toksisitas berupa perubahan perilaku atau fisiologis hewan uji, seperti batuk, konvulsi, atau hiperaktif selama periode pengamatan, yaitu 4 jam hingga 14 hari pasca pemberian ekstrak kulit jengkol. Selain itu, perlakuan tersebut menyebabkan perubahan berat badan hewan uji yang signifikan dibandingkan dengan kontrol. Data perubahan berat badan tikus dari kelompok kontrol hingga dosis 9100 mg/kg BB disajikan dalam Tabel 2. Data berat badan tikus dari kelompok dosis 12900 dan 17500 mg/kg BB tidak disajikan karena kematian tikus pada kelompok tersebut menyebabkan perbedaan jumlah data ulangan, sehingga data menjadi tidak homogen.

Data pada Tabel 2 menunjukkan bahwa berat badan tikus dari kelompok dosis 5500-9100 mg/kg BB menunjukkan peningkatan yang signifikan ($p > 0,05$) dibandingkan dengan kontrol. Penurunan berat badan hewan uji dari kelompok kontrol diduga terjadi akibat stres yang dipicu oleh prosedur penelitian (Balcombe et al. 2004). Stres akibat pemberian perlakuan secara oral menggunakan sonde kepada tikus betina dalam kondisi sadar dapat menyebabkan penurunan berat badan selama periode uji (Murphy et al. 2001). Penurunan berat badan diduga bukan disebabkan oleh pemberian CMC 0,5% sebagai pelarut ekstrak karena substansi tersebut tidak bersifat toksik (van Ginkel dan Gayton 1996).

Peningkatan berat badan tikus yang diberi perlakuan ekstrak etanol kulit buah jengkol dapat disebabkan oleh peningkatan konsumsi pakan pada kelompok perlakuan yang diberi ekstrak etanol kulit buah jengkol. Dari hasil penelitian Shukri et al. (2011), tikus yang diberi tambahan biji buah jengkol pada pakan memiliki tingkat konsumsi pakan yang lebih tinggi daripada kontrol. Biji dan kulit buah jengkol diketahui memiliki kesamaan kandungan senyawa aktif, yaitu flavonoid, terpenoid, dan alkaloid (Muslim et al. 2012), sehingga diduga senyawa yang sama juga mempengaruhi tingkat konsumsi pakan tikus yang diberi ekstrak kulit buah jengkol, sehingga menyebabkan peningkatan berat badan. Sementara itu, pada dosis 12900 dan 17500 mg/kg BB menunjukkan adanya gejala toksisitas berupa penurunan aktivitas motorik dan badan lemas, bahkan mati pasca pemberian dosis. Gejala ini terjadi pada semua tikus yang mati, namun tidak nampak pada tikus yang masih hidup.

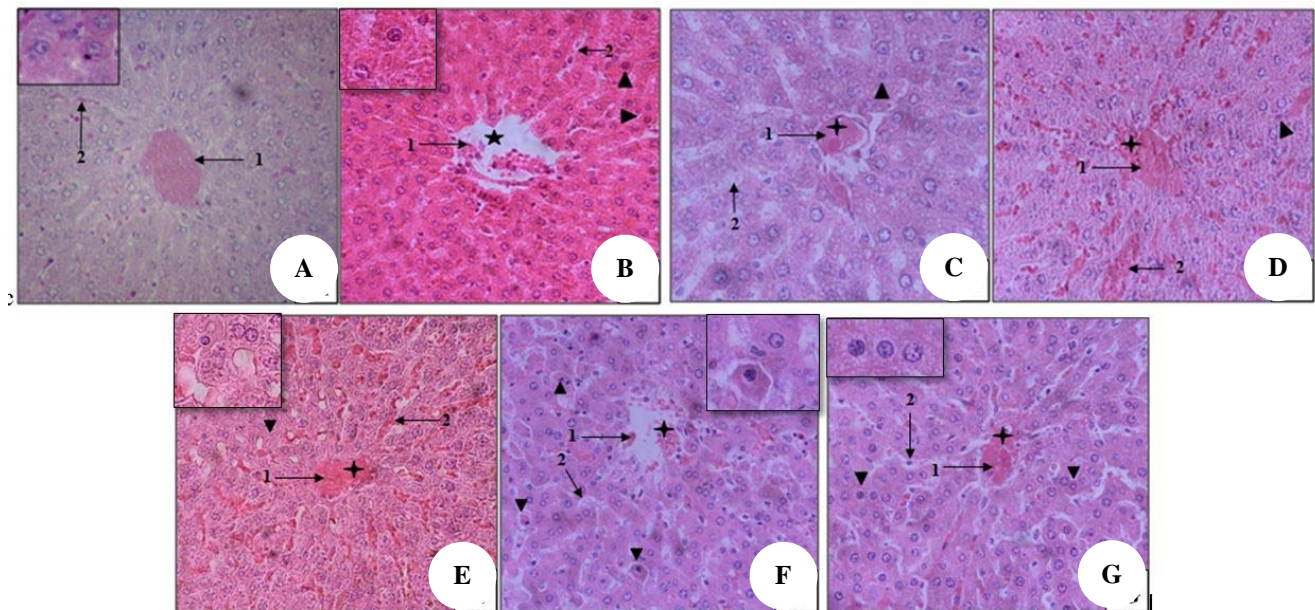
Tabel 1. Skor parameter kerusakan jaringan hati (Budiono dan Herwiyanti 2000)

Skor	Hepatosit			Parameter		Derajat kerusakan
	Nukleus	Sitoplasma	Susunan	Vena sentralis	Sinusoid	
0	Normal	Homogen	Radial teratur	Lebar, normal	Normal, utuh	Normal
1	Nekrosis	Homogen	Radial teratur	Lebar, tidak normal	Normal, utuh	Rusak ringan
2	Nekrosis	Homogen	Tidak teratur	Sempit, tidak normal	Tidak utuh (melebar/menyempit)	Rusak sedang
3	Nekrosis	Steatosis	Tidak teratur	Sempit, tidak normal	Tidak utuh (melebar/menyempit)	Rusak parah

Tabel 2. Rata-rata dan perubahan berat badan tikus dalam periode pengamatan selama 14 hari setelah perlakuan.

Kelompok perlakuan	Rata-rata berat badan (gram)			Perubahan berat badan (gram)
	Hari ke-0	Hari ke-7	Hari ke-14	
CMC 0,5%	174,2±9,65	166,0±7,84	161,0±8,46	-13,2±2,39 a
Ekstrak etanol kulit jengkol pada dosis 5500 mg/kg BB	114,2±2,86	121,6±14,28	120,2±14,45	6±14,11 b
Ekstrak etanol kulit jengkol pada dosis 6900 mg/kg BB	145,0±11,85	155,8±20,32	159,0±15,15	14±8,31 b
Ekstrak etanol kulit jengkol pada dosis 8200 mg/kg BB	136,2±5,58	136,0±5,43	138,8±9,39	2,6±7,02 b
Ekstrak etanol kulit jengkol pada dosis 9100 mg/kg BB	130,2±8,38	128,2±5,80	142,8±9,36	12,6±14,12 b

Keterangan: Data dianalisis dengan Kruskal-Wallis dan uji Multiple Comparisons. Huruf yang berbeda dalam satu kolom menunjukkan perbedaan yang nyata ($p < 0,05$).



Gambar 1. Sayatan melintang sediaan histologis organ hati tikus dengan pewarnaan Hematoksilin-Eosin pada perbesaran 10x40. (A) CMC 0,5%, (B) 5500, (C) 6900, (D) 8200, (E) 9100, (F) 12900, dan (G) 17500 mg/kg BB. Keterangan: 1 = Vena sentralis, 2 = sinusoid, (★) = vena sentralis melebar, (⊕) = vena sentralis menyempit, (▼) = hepatosit nekrosis

Pengaruh toksisitas akut ekstrak etanol kulit buah jengkol terhadap sediaan histologis hati tikus Wistar betina

Pengamatan sediaan histologis organ hati dilakukan untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak etanol kulit buah jengkol terhadap organ hati. Hasil pengamatan histologis pada jaringan hati tikus disajikan pada Gambar 1. Berdasarkan hasil pengamatan histologis struktur organ hati, tikus yang mendapat perlakuan CMC 0,5% (kontrol) menunjukkan kondisi struktur hati yang normal dengan ciri-ciri nukleus hepatosit normal, sitoplasma homogen, susunan sel hepatosit teratur, vena sentralis normal, dan sinusoid utuh (Gambar 1.A). Gambaran histologis hepatosit normal menunjukkan susunan sel radial terhadap vena sentralis dan bentuk sel bulat atau oval (polihedral) dengan nukleus di tengah sel. Ada sel yang memiliki satu nukleus dan ada sel yang memiliki dua nukleus (binukleat) yang terdapat di tengah sel (Gambar 1A). Hal ini sesuai dengan kriteria menurut Bevelander et al. (1988). Hepatosit juga berbatasan dengan sinusoid yang berisi darah (Dellmann dan Brown 1992). Gambaran vena sentralis normal memiliki ciri-ciri batas dinding endotel jelas dan utuh.

Sinusoid normal memanjang ke vena sentralis dan tersusun atas sel endotel dan sel Kupfer. Hal ini sesuai dengan kriteria menurut Wisse et al. (1996).

Sediaan histologis hati tikus yang diberi perlakuan ekstrak etanol kulit buah jengkol dengan dosis 5500 mg/kg BB menunjukkan kerusakan ringan jaringan hati yang dicirikan dengan beberapa nukleus sel hati nekrosis, sitoplasma homogen, susunan sel hati teratur, vena sentralis melebar, dan sinusoid utuh. Ciri nekrosis yang teramati adalah nukleus piknotik, yaitu nukleus memadat sehingga terlihat berukuran lebih kecil dan berwarna lebih ungu pekat dalam pewarnaan Hematoksilin-Eosin. Akan tetapi, hepatosit yang mengalami nekrosis tersebut masih berbentuk bulat dengan kondisi sel yang masih tersusun secara radial. Menurut Himawan (1994), kerusakan jaringan hati diawali dengan pelebaran vena sentralis yang disebabkan oleh sel-sel endotel yang mengalami lisis pada vena sentralis. Oleh karena itu, diduga dosis 5500 mg/kg BB merupakan dosis terendah ekstrak etanol kulit buah jengkol yang teramati menyebabkan efek toksik pada tingkat jaringan, atau disebut juga dengan *Lowest Observed Adverse Effect Level* (LOAEL).

Tabel 3. Skor histopatologis organ hati tikus Wistar betina dengan pemberian ekstrak etanol kulit buah jengkol

Kelompok perlakuan	Skor (rerata ± SD)	Kategori
CMC 0,5%	0±0 a	Normal
Ekstrak etanol kulit buah jengkol 5500 mg/kg BB	1,4±0,2 b	Rusak ringan
Ekstrak etanol kulit buah jengkol 6900 mg/kg BB	1,6±0,2 b	Rusak ringan
Ekstrak etanol kulit buah jengkol 8200 mg/kg BB	1,6±0,2 b	Rusak ringan
Ekstrak etanol kulit buah jengkol 9100 mg/kg BB	1,73±0,30 b	Rusak ringan
Ekstrak etanol kulit buah jengkol 12900 mg/kg BB	1,73±0,23 b	Rusak ringan
Ekstrak etanol kulit buah jengkol 17500 mg/kg BB	1,93±0,12 b	Rusak ringan

Keterangan: Data dianalisis dengan uji Kruskal-Wallis dan Multiple Comparisons. Huruf yang berbeda dalam satu kolom menunjukkan perbedaan yang nyata ($p < 0,05$). Skor < 1 = normal, $1 < \text{skor} < 2$ = rusak ringan, $2 < \text{skor} < 3$ = rusak sedang, skor > 3 = rusak parah

Sediaan histologis tikus yang diberi perlakuan ekstrak etanol kulit buah jengkol pada dosis 6900 (Gambar 1C), 8200 (Gambar 1D), 9100 (Gambar 1E), 12900 (Gambar 1F), dan 17500 mg/kg BB (Gambar 1G) menunjukkan derajat kerusakan ringan yang dicirikan dengan beberapa nukleus hepatosit nekrosis, sitoplasma homogen, susunan sel hepatosit tidak teratur, vena sentralis menyempit, dan sinusoid melebar. Ciri nekrosis yang teramati pada nukleus hepatosit dari kelompok-kelompok perlakuan tersebut berupa karyolisis dan piknosis. Selain itu, pada dosis 17500 mg/kg BB juga teramati adanya sel-sel hati yang mengalami degenerasi perlemakan atau steatosis. Kondisi tersebut ditandai dengan adanya tetesan lemak yang terlihat seperti vakuola putih pada sitoplasma. Menurut Maretnowati dkk. (2005), apabila senyawa toksik masuk dalam jumlah besar ke organ hati, akan menimbulkan degenerasi dan nekrosis yang dapat merusak jaringan hati.

Sel-sel hati yang mengalami nekrosis memiliki bentuk yang tidak teratur dan tidak dapat kembali ke bentuk semula, sehingga menyebabkan rusaknya susunan sel-sel tersebut. Hal ini berakibat sinusoid yang berbatasan dengan sel-sel tersebut menjadi terlihat melebar (Octavianti 2005). Selain itu, pelebaran sinusoid juga dapat disebabkan oleh tingginya kadar toksikan dalam darah yang melalui hati. Menurut Greep (1953), sebagian sinusoid hati berfungsi sebagai tempat mengalirnya darah yang bermuara di vena sentralis, namun sebagian lainnya inaktif dan dijadikan tempat penampungan darah. Apabila konsentrasi zat toksik dalam darah terlalu tinggi, kerusakan hepatosit akan terjadi dan menyebabkan kerusakan sinusoid (Bonkovsky et al. 1996). Selain itu, pemajanan toksikan dapat meningkatkan penampungan darah pada sinusoid, sehingga banyaknya darah yang tertampung diduga juga menyebabkan semakin melebarinya pembuluh sinusoid tersebut.

Hasil pengamatan sediaan histologis organ hati dengan metode skoring ditampilkan dalam Tabel 3. Parameter struktur organ hati yang diamati adalah hepatosit (nukleus, sitoplasma, dan susunan sel), vena sentralis, dan sinusoid.

Hasil analisis statistik sediaan histologis organ hati dengan uji Kruskal-Wallis menunjukkan perbedaan yang nyata antara kelompok kontrol dan kelompok perlakuan terhadap parameter struktur organ hati ($p < 0,05$), sehingga analisis dilanjutkan dengan uji *Multiple Comparisons*. Hasil uji tersebut menunjukkan bahwa terdapat

kecenderungan peningkatan derajat kerusakan struktur jaringan hati seiring dengan peningkatan dosis, namun tidak terdapat perbedaan nyata yang antar kelompok perlakuan. Hal ini mendukung dugaan bahwa tingkat kerusakan jaringan hati dipengaruhi oleh konsentrasi zat toksik yang terdapat dalam aliran darah. Dengan demikian, secara umum pemberian ekstrak etanol kulit buah jengkol dengan dosis tunggal 5500, 6900, 8200, 9100, 12900, dan 17500 mg/kg BB memberikan efek toksik ringan terhadap struktur histologis organ hati tikus. Dengan demikian, nilai *lowest observed adverse effect level* (LOAEL) dideteksi pada dosis 5500 mg/kg BB yang menyebabkan kerusakan ringan jaringan hati, berupa nekrosis pada hepatosit dan pelebaran diameter vena sentralis, namun susunan hepatosit dan sinusoid masih normal. Oleh karena itu, dapat disimpulkan bahwa penggunaan ekstrak kulit buah jengkol di bawah dosis 5500 mg/kg BB bersifat aman, sehingga dapat dikembangkan sebagai obat herbal terstandarisasi untuk mengatasi diabetes.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Rektor Universitas Padjadjaran dan Direktur Riset dan Pengabdian kepada Masyarakat atas dana yang diberikan untuk penelitian ini melalui skema Hibah Pengembangan Kapasitas Riset Dasar tahun anggaran 2016 sesuai dengan Surat Kontrak Penelitian No. 1094/UN6.3.1/PL/2016.

DAFTAR PUSTAKA

- Babu PVA, Babua A, Liub D et al. 2013. Recent advances in understanding the anti-diabetic actions of dietary flavonoids. *J Nutr Biochem* 24: 1777-1789.
- Bevelander G, Ramaley JA, Gunarso W. 1988. Dasar-dasar histology. Edisi kedelapan. Penerbit Erlangga, Jakarta.
- Bhardwaj S, Gupta D. 2012. Study of acute, sub acute and chronic toxicity test. *IJARPB* (2): 103-129.
- Budiono B, Herwiyanti S. 2000. The Histological Structure of Liver of Rats after Consuming Extract of Lamtoro Leaf and Green Tea (*Leucaena leucocephala*). *Jurnal Kedokteran Yarsi* 8 (2): 16-24
- Dellmann HD, Brown ES. 1992. Histologi Veteriner II. UI Press, Jakarta.
- Greep RO. 1953. Histology. The Blackinton Company, Inc., New York.
- Humason GL. 1979. Animal tissue technique. 4th edition. W.H. Freeman and Company, San Fransisco.

- Hutapea JR. 1994. Inventarisasi tanaman obat Indonesia. Edisi ketiga. Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta.
- Liu X, Kim J, Li Y et al. 2015. Tannic acid stimulates glucose transport and inhibits adipocyte differentiation in 3T3-L1 cells. *J Nutr* 135 (2): 165-171.
- Lu FC, Kacew S. 2002. *Lu's basic toxicology: Fundamentals, target organs and risk assessment*. Fourth edition. Taylor & Francis, London.
- Maretnowati N, Widyawaryanti, A. Santosa MH. 2005. Uji toksisitas akut dan subakut ekstrak etanol dan ekstrak air kulit batang *Artocarpus champeden* Spreng dengan parameter histopatologi hati mencit. *Majalah Farmasi Airlangga* 91:5-12.
- Muslim NS, Nassar ZD, Aishal AFA et al. 2012. Antiangiogenesis and antioxidant activity of ethanol extracts of *Pithecellobium jiringa*. *BMC Complement Altern Med* 12: 210-219. Doi: 10.1186/1472-6882-12-210.
- Nielsen IC. 1992. *Flora Malesiana Series I - Spermatophyta: Flowering plants*. Rijksherbarium/Hortus Botanicus, Leiden University, Leiden.
- OECD [Organisation for Economic Co-operation and Development]. 2001. OECD Guideline for the testing of chemicals, revised draft test guideline 423, acute oral toxicity - acute toxic class method. Organisation for Economic Co-operation and Development. Paris.
- Patwardhan B. 2005. Traditional medicine: Modern approach for affordable global health. World Health Organization (WHO) and Commission on Intellectual Property, Innovation, and Public Health (CIPIH). Geneva.
- Schuppan D, Dayan A, Charlesworth FA. 2014. The contribution of acute toxicity testing to the evaluation of pharmaceuticals. Springer-Verlag, Berlin Heidelberg.
- Shukri R, Mohamed S, Mustapha NM et al. 2011. Evaluating the toxic and beneficial effects of jering beans (*Archidendron jiringa*) in normal and diabetic rats. *J Sci Food Agric* 91 (14): 2697-2706.
- Sudjana. 2012. *Metoda statistika*. Tarsito, Bandung.
- Syafnir L, Krishnamurti Y, Ilma M. 2014. Uji aktivitas antidiabetes ekstrak etanol kulit jengkol (*Archidendron pauciflorum* (Benth.) I.C. Nielsen). *Prosiding SNaPP2014 Sains, Teknologi, dan Kesehatan* 4 (1): 65-72.
- Velayutham R, Sankaradoss N, Ahamed KF. 2012. Protective effect of tannins from *Ficus racemosa* in hypercholesterolemia and diabetes induced vascular tissue damage in rats. *Asian Pac J Trop Med* 5 (5): 367-373.
- Wahyuni NY, Mayasari N, Abun. 2012. Pengaruh penggunaan ekstrak kulit jengkol (*Pithecellobium jiringa* (Jack) Prain) dalam ransum terhadap nilai hematologi ayam Broiler. *e-Jurnal Mahasiswa* 1 (1). jurnal.unpad.ac.id. [15 Januari 2017].
- Wisse E, Braet F, Luo D et al. 1996. Structure and function of sinusoidal lining cell in the liver. *Toxicol Pathol* 24 (1): 100-111.