

UJI TOKSISITAS SUBKRONIK EKSTRAK TERPURIFIKASI DAUN PACAR KUKU (*Lawsonia inermis* L.) TERHADAP HATI TIKUS

SUBCHRONIC TOXICITY TEST OF PURIFIED EXTRACT OF PACAR KUKU LEAVES (*Lawsonia inermis* L.) ON LIVER OF RATS

Fitriani W. Alani^{1*}, Rismawati², Mus Ifaya³, Armayani⁴

^{1,2,3} Program Studi S1 Farmasi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Mandala Waluya

⁴ Program Studi Ilmu Keperawatan, Fakultas Ilmu-Ilmu Kesehatan, Universitas Mandala Waluya

*Email corresponding author: fitrianiw.alani@gmail.com

Diterima : 20 Mei 2025

Disetujui : 12 Juni 2025

Terbit : 30 Juni 2025

ABSTRACT

Pacar Kuku plant (*Lawsonia inermis* L.) has the main content of active compounds such as flavonoids, glycosides, alkaloids, phenols, essential oils, and glycosides. The most active compounds found in Pacar Kuku leaves are phenols and flavonoids. Pacar Kuku leaves have many pharmacological activities including antimicrobial activity, diabetes mellitus treatment, cytotoxic, antiviral and wound healing effects. The purpose of this study was to determine the subchronic toxicity of purified extract of henna leaves by looking at the histological picture of the liver and symptoms of toxicity in mice. The study used both male and female Wistar rats, divided into four groups. The division of treatment groups is as follows: Group 1 as the control group was given Na. CMC 1%, groups 2 to 4 were given purified extract of Pacar Kuku leaves with dose variations of 250 mg / KgBW, 500 mg / KgBW and 1000 mg / KgBW given for 28 days. For 28 days, the animals were observed for toxicity symptoms such as respiratory rate, fatigue, body movement, fur appearance, gait, trembling, saliva production, and urination frequency and histopathological analysis of the heart was performed on the 28th day. Administration of purified extract of Pacar Kuku leaves at doses of 250 mg/kgBW, 500 mg/kgBW and 1000 mg/kgBW did not cause toxicity symptoms but affected the histopathological picture of the liver in mice which was characterized by cell damage in the form of necrosis, fatty degeneration and hydropic degeneration in each treatment group.

Keywords: purified extract, pacar kuku leaves, toxicity, subchronic

ABSTRAK

Tanaman pacar kuku (*Lawsonia inermis* L.) memiliki kandungan utama senyawa aktif seperti flavonoid, glikosida, alkaloid, fenol, minyak atsiri, dan glikosida. Senyawa aktif yang paling banyak ditemukan dalam daun pacar kuku yaitu fenol dan flavonoid. Daun pacar kuku memiliki banyak aktivitas farmakologi diantaranya memiliki aktivitas antimikroba, pengobatan diabetes mellitus, sitotoksik, antivirus dan efek penyembuhan luka. Tujuan dari penelitian ini untuk mengetahui toksisitas subkronik dari ekstrak terpurifikasi daun pacar kuku dengan melihat gambaran histologi hati dan gejala toksistas pada tikus. Penelitian ini menggunakan tikus galur wistar Jantan dan betina yang dibagi dalam 4 kelompok. Pembagian kelompok perlakuan sebagai berikut: Kelompok 1 sebagai kelompok kontrol diberikan Na. CMC 1%, kelompok 2 sampai 4 diberikan ekstrak terpurifikasi

daun pacar kuku dengan variasi dosis 250 mg/kgBB, 500 mg/kgBB dan 1000 mg/kgBB diberikan selama 28 hari. Selama 28 hari, hewan diamati gejala toksisitasnya seperti laju pernapasan, kelelahan, gerakan tubuh, penampilan bulu, cara berjalan, gemetar, produksi air liur, dan frekuensi berkemih serta dilakukan analisis histopatologi hati pada hari ke-28. Pemberian ekstrak terpurifikasi daun pacar kuku dengan dosis 250 mg/kgBB, 500 mg/kgBB dan 1000 mg/kgBB tidak memberikan gejala toksisitas tetapi mempengaruhi gambaran histopatologi hati pada tikus yang ditandai adanya kerusakan sel sel hati berupa nekrosis, degenerasi lemak dan degenerasi hidropik pada masing-masing kelompok perlakuan

Kata kunci: ekstrak terpurifikasi, daun pacar kuku, toksisitas, subkronik

PENDAHULUAN

Masyarakat Indonesia telah memanfaatkan tumbuhan ataupun tanaman sebagai obat sejak zaman dahulu, bahkan sampai saat ini pemanfaatan tanaman sebagai terapi masih dilakukan. Hal ini dikarenakan Indonesia memiliki jumlah tumbuhan dan tanaman yang dipercaya berkhasiat dalam menyembuhkan dan mencegah penyakit serta lebih memberikan efek samping yang lebih sedikit dibandingkan obat sintetik. Seiring dengan perkembangan zaman pemanfaatan tanaman sebagai obat baik untuk pencegahan maupun pengobatan semakin meningkat. Meskipun secara umum tanaman obat dianggap lebih aman dibandingkan obat sintesis, kewaspadaan terhadap potensi toksisitas tetap perlu diperhatikan. Sebagai bahan yang digunakan untuk pengobatan, tanaman selain harus dibuktikan secara ilmiah memiliki aktivitas biologis atau khasiat yang baik, juga harus dibuktikan efek toksiknya.

Tanaman pacar kuku merupakan salah satu jenis tanaman yang terdapat di Indonesia yang secara tradisional digunakan untuk penyembuhan beberapa penyakit. Tanaman pacar kuku (*Lawsonia inermis* L.) memiliki kandungan utama senyawa aktif seperti flavonoid, glikosida, alkaloid, fenol, minyak atsiri, dan glikosida. Senyawa aktif yang paling banyak ditemukan dalam daun pacar kuku yaitu fenol dan flavonoid (Husni et al., 2018). Selain itu, Menurut penelitian (Ifaya et al., 2021) melaporkan daun pacar kuku (*Lawsonia inermis* L) memiliki aktivitas sebagai antioksidan yang sangat kuat dan mengandung senyawa flavonoid dan memiliki nilai $IC_{50} = 39,07$ mg/L.

Daun pacar kuku memiliki banyak aktivitas farmakologi diantaranya memiliki aktivitas antimikroba, pengobatan diabetes mellitus, sitotoksik, antivirus dan efek penyembuhan luka. Selain itu, bagian daun, bunga dan biji secara turun temurun digunakan untuk mengobati berbagai macam gangguan pencernaan seperti disentri, diare dan sembelit (Fatmawati et al., 2019). Meskipun tanaman daun pacar kuku (*Lawsonia inermis* L.) telah digunakan secara luas sebagai obat tradisional hingga saat ini, penelitian mengenai toksisitas dari ekstrak daun pacar kuku masih sangat terbatas. Secara khusus, belum banyak kajian yang mengevaluasi potensi toksisitas subkronik berdasarkan gambaran histopatologi hati pada hewan uji. Oleh karena itu, diperlukan penelitian lebih lanjut untuk menilai keamanan penggunaan ekstrak terpurifikasi daun pacar kuku.

METODE PENELITIAN

Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan pada bulan februari 2024 hingga April 2024 di Laboratorium Farmakognosi-Fitokimia dan Laboratorium Biofarmasetika-Farmakologi Universitas Mandala Waluya, serta Biopath Laboratorium Medik Bandung.

Populasi dan Sampel

Populasi dalam penelitian ini yaitu tanaman pacar kuku (*Lawsonia inermis* L) yang diperoleh di Jalan Haji Banawula Sinapoy Lapulu, Kota Kendari, Sulawesi Tenggara. Bagian tanaman pacar kuku yang digunakan adalah daunnya dan sampel yang digunakan yaitu ekstrak terpurifikasi daun pacar kuku (*Lawsonia inermis* L).

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan adalah toples kaca, kertas saring, batang pengaduk, rotary evaporator (Buchi®), hair dryer, corong pisah (Pyrex®), klem dan statif, erlenmeyer (Pyrex®), gelas kimia (Pyrex®), gelas ukur (Pyrex®), timbangan digital, timbangan analitik (Ohouse USA®), magnetic stirrer dan penangas air (IKA®), kertas saring (Whatman®), spoit (Onemed®), jarum oral mencit (Onemed®), mortir dan stamper, gunting (Stainless®), mikroskop cahaya

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun pacar kuku (*Lawsonia inermis* L), aquadest, etanol 96%, etil asetat, paraffin, natrium karboksimetilselulosa (Na,CMC) 1%, hewan uji tikus (*Rattus norvegicus*).

Prosedur Penelitian

Penelitian ini mengaplikasikan metode eksperimental dengan pendekatan fixed dose. Tujuan dari pendekatan ini adalah untuk menentukan tingkat toksisitas suatu bahan uji yang tergolong memiliki toksisitas sedang, dengan harapan dapat mengurangi rasa nyeri yang parah serta efek iritasi atau korosif. Keuntungan dari metode ini terletak pada penggunaan hewan uji yang lebih sedikit dan prosedur pengujian yang lebih praktis serta sederhana.

Ekstraksi Sampel

Daun pacar kuku (*Lawsonia inermis* L) diekstraksi menggunakan metode maserasi. Sampel ditimbang sebanyak 1000 gram kemudian dimasukkan kedalam bejana maserasi dan ditambahkan pelarut etanol 96% dengan perbandingan 1:1 sampai semua sampel terendam, dan ditutup rapat disimpan pada tempat yang terlindung dari cahaya matahari langsung selama 3x24 jam dengan sesekali diaduk. Proses ini dilakukan dengan 3 kali pengulangan dan ditampung setiap 24 jam hingga diperoleh maserat terakhir yang tidak berwarna. Hasil maserat yang diperoleh dicampur kemudian di rotary evaporator untuk menghilangkan pelarut yang terkandung dalam sampel kemudian dipekatkan dengan Hair dryer hingga diperoleh hasil rendemen ekstrak kental daun pacar kuku (Depkes RI, 2018).

Ekstrak Terpurifikasi

Ekstrak kental yang telah diperoleh dari hasil maserasi dilakukan dengan cara metode partisi cair-cair. Ekstrak kental dilarutkan dengan aquadest dan etanol 96% dengan perbandingan 1:1 tujuannya untuk memisahkan klorofil yang ada pada sampel. Kemudian dihomogenkan dengan Magnetic stirrer sekitar 2-3 jam, setelah itu disimpan pada ruangan tertutup dan didiamkan selama 24 jam. Endapan yang merupakan klorofil dipisahkan dari filtratnya. Kemudian filtrat yang bebas klorofil disaring menggunakan kertas saring dan dimasukkan dalam corong pisah, ditambahkan etil asetat dengan perbandingan 1:1 dan diambil lapisan atasnya. Ekstrak yang telah dipartisi dikentalkan menggunakan Rotary Evaporator dan dipekatkan dengan Hairdryer (Juliawati, et al., 2020).

Desain Ekperimental

Sebanyak 40 ekor tikus putih jantan dan betina (masing-masing kelompok terdiri atas 10 tikus, 5 tikus jantan dan 5 tikus betina) diadaptasikan selama 7 hari sebelum perlakuan. Tikus dibagi menjadi 4 kelompok perlakuan:

1. Kelompok 1 : kelompok kontrol (Na.CMC 1%)
2. Kelompok 2 : kelompok ekstrak terpurifikasi daun pacar kuku dosis 250 mg/kgBB, yang diberikan ekstrak selama 28 hari
3. Kelompok 3 : kelompok ekstrak terpurifikasi daun pacar kuku dosis 500 mg/kgBB, yang diberikan ekstrak selama 28 hari
4. Kelompok 4 : kelompok ekstrak terpurifikasi daun pacar kuku dosis 1000 mg/kgBB, yang diberikan ekstrak selama 28 hari.

Selama 28 hari, hewan uji dipantau secara individual. Observasi awal dilakukan secara intensif selama 30 menit pertama, kemudian dilanjutkan dengan pemantauan setiap 4 jam selama 24 jam pertama. Selanjutnya, observasi dilakukan satu kali sehari selama 28 hari. Jadwal pengamatan dapat disesuaikan tergantung pada munculnya respons toksik, gejala klinis, dan waktu pemulihan. Pencatatan yang sistematis mencakup waktu muncul dan hilangnya gejala toksisitas, terutama apabila terdapat tanda-tanda keracunan yang muncul terlambat. Jika hewan menunjukkan gejala toksik yang terus-menerus, pengamatan lanjutan perlu dilakukan. Parameter yang dinilai meliputi frekuensi pernapasan, tingkat kelelahan, aktivitas motorik, kondisi bulu, pola berjalan, perilaku merawat diri, tremor, sekresi air liur, serta frekuensi berkemih.

Pemeriksaan Histopatologi

Pada hari ke-29, selanjutnya hewan coba dieutanasia dan diambil organ hatinya secara hati-hati dan difiksasi dalam larutan buffer 10% dan dipotong dengan ketebalan 0,5 – 1 cm. Setelah itu, potongan organ hati dimasukkan ke dalam mesin processing proses selama 12 jam, kemudian potongan sampel dimasukkan ke dalam paraffin hingga terbentuk paraffin blok. Pisahkan blok dari cetakan dan blok dipotong dengan ketebalan 4-5 µm Potongan terbaik dimasukkan ke dalam wadah yang berisi aquadest dan diambil dengan menggunakan objek glass dan disimpan di atas plate pemanas selama 2 jam. Pewarnaan jaringan dilakukan dengan menggunakan hematoxylin dan eosin lalu, diberikan 1 – 2 tetes xylene pada masing-masing preparat. Preparat ditutup dengan menggunakan deck glass dan dibiarkan hingga mengering lalu, diamati dengan menggunakan mikroskop cahaya dengan perbesaran 200 x dan difoto dengan kamera digital.

TEKNIK ANALISIS DATA

Analisis data gambaran histopatologi hati dilakukan secara deskriptif dengan membandingkan Tingkat kerusakan organ hati kelompok kontrol dan kelompok ekstrak terpurifikasi daun pacar kuku yang dinilai berdasarkan parameter histologi dan skor derajat kerusakan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Uji toksisitas adalah pengujian yang dilakukan untuk mendeteksi dan mengevaluasi gejala toksisitas yang ditimbulkan oleh suatu zat yang dapat menyebabkan kematian. Penelitian ini dilakukan dengan menggunakan hewan uji. Penggunaan hewan percobaan dalam uji toksisitas merupakan prosedur yang diwajibkan dalam berbagai regulasi terkait penilaian keamanan, bahan

alam, pangan, bahan kimia serta perangkat medis terbaru. Untuk menilai efek toksik suatu bahan terhadap fungsi organ, dapat dilakukan menggunakan pengamatan secara patologi anatomi dan histopatologi. Pemeriksaan Patologi Anatomi dilakukan untuk memvalidasi terhadap temuan terbaru klinis yang memerlukan analisis lanjut. Selain itu, dapat juga digunakan untuk membandingkan efek toksis dari suatu senyawa dengan berbagai konsentrasi dosis (Hambal et al., 2019)

Pengujian toksisitas subkronik terhadap ekstrak terpurifikasi daun pacar kuku (*Lawsonia inermis* L.) dilakukan pada tikus putih. Prinsip dasar dari uji toksisitas subkronik adalah pemberian bahan uji secara berulang dalam dosis bertingkat kepada sejumlah kelompok hewan uji selama periode waktu tertentu. Selama masa perlakuan, dilakukan pemantauan secara sistematis terhadap munculnya gejala toksikologis serta mortalitas, guna mengevaluasi potensi efek toksik dari zat uji terhadap organisme dalam jangka waktu yang relatif panjang.

Penelitian ini menggunakan 40 ekor tikus yang terdiri dari 20 ekor tikus betina dan 20 ekor tikus Jantan dengan berbadan sehat (Warna mata merah cerah, rambut tebal dan halus, fesesnya padat, berat badan $\pm$ 200 gram) sebagai hewan coba. Adapun alasan penggunaan tikus Jantan dan betina sebagai hewan dalam penelitian ini dikarenakan telah dilakukan beberapa pertimbangan bahwa hewan tersebut cocok dengan kriteria pengujian toksisitas subkronik berdasarkan metabolisme tubuhnya yang sesuai dengan manusia, ukurannya yang relative besar dari pada mencit, lebih kecil dan lebih bertingkah aktif sehingga mudah diamati serta dapat bertahan lebih kuat untuk penelitian jangka lama (BPOM RI, 2022). Perbedaan jenis kelamin hewan dimaksudkan untuk mengetahui perbandingan parameter hasil pengujian serta factor penyebab dari kedua jenis kelamin tersebut.

Gejala-Gejala Toksisitas Subkronik

Gejala toksisitas subkronik pada tikus dilakukan pengamatan 4 jam setelah pemberian ekstrak terpurifikasi daun pacar kuku secara oral hingga hari ke-28. Hasil pengamatan dapat di lihat pada tabel 1.

Tabel 1. Pengamatan gejala klinis kelompok tikus Jantan dan betina yang diberi ekstrak terpurifikasi daun pacar kuku selama 28 hari

Jenis kelamin	Kelompok Dosis	Gejala Toksik (t=28 hari)					
		Kelelahan	Tremor	Grooming	Diare	Warna kulit/bulu	Cara Jalan
Jantan	K1	-	-	-	-	-	-
	K2	-	-	-	-	-	-
	K3	-	-	-	-	-	-
	K4	-	-	-	-	-	-
Betina	K1	-	-	-	-	-	-
	K2	-	-	-	-	-	-
	K3	-	-	-	-	-	-
	K4	-	-	-	-	-	-

Keterangan:

K1 : Kelompok Kontrol (Na.CMC)

K2 : Kelompok Ekstrak Terpurifikasi Daun Pacar Kuku dosis 250 mg/kgBB

- K3 : Kelompok Ekstrak Terpurifikasi Daun Pacar Kuku dosis 500 mg/kgBB
 K4 : Kelompok Ekstrak Terpurifikasi Daun Pacar Kuku dosis 1000 mg/kgBB
 + : Ada gejala toksik
 - : Tidak ada gejala toksik

Tabel 1 menunjukkan hasil pengamatan gejala toksisitas pada semua kelompok percobaan setelah diberikan ekstrak terpurifikasi daun pacar kuku selama 28 hari berturut-turut. Parameter gejala toksisitas yang diamati meliputi kelelahan, tremor, aktivitas grooming, diare, perubahan warna kulit atau bulu, serta gangguan pada cara berjalan. Berdasarkan hasil pengamatan, tidak ditemukan adanya gejala toksisitas yang tampak secara klinis pada seluruh kelompok perlakuan, baik jantan maupun betina. Hal ini menunjukkan bahwa tidak ada perubahan perilaku atau kondisi fisik luar yang mengindikasikan adanya toksisitas.

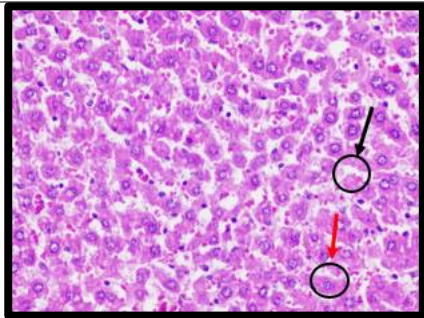
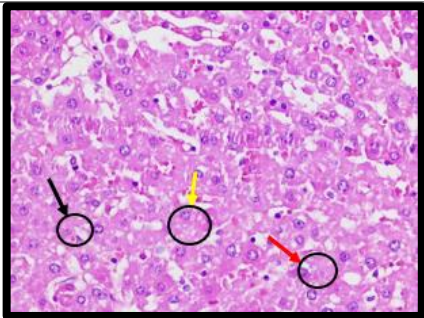
Pemeriksaan Histologi

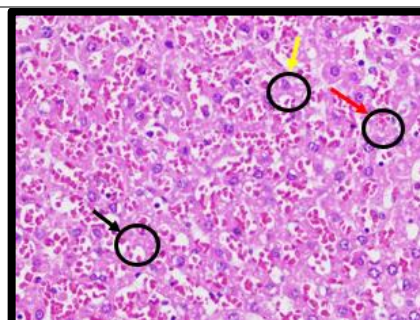
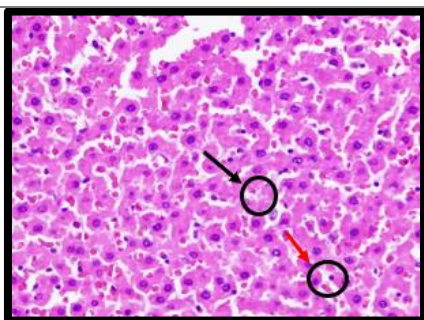
Pengamatan gambaran histopatologi organ hati tikus di lakukan setelah hewan uji tikus diberikan perlakuan secara subkronik selama 28 hari dengan ekstrak terpurifikasi daun pacar kuku. Pembuatan preparat histopatologi organ hati tikus dilakukan di Biopath Laboratorium Medik Bandung dengan menggunakan pewarna HE.

Hati adalah organ ekskresi utama yang berperan dalam mengeluarkan zat-zat toksik yang terpapar pada tubuh. Kerusakan pada hati dapat menjadi penanda jika terdapat zat toksik pada tubuh. Perubahan patologis pada hati dapat terjadi jika adanya paparan obat-obatan dan bahan kimia dengan jangka waktu panjang dan dosis yang berlebihan. Perubahan patologis hati yang terjadi yaitu degenerasi lemak dan nekrosis. Perubahan ini dapat menurunkan kemampuan regenerasi sel sehingga menyebabkan kerusakan permanen sampai kematian sel sehingga hati akan kehilangan fungsinya (Anggraeny *et al.*, 2014)

Hasil pemeriksaan histologi dapat dilihat pada gambar 1 . Pemberian ekstrak terpurifikasi daun pacar kuku menyebabkan perubahan pada gambaran histologi hati.

Tabel 2. Gambaran histologi hati tikus Jantan dan betina yang diberi ekstrak terpurifikasi daun pacar kuku selama 28 hari

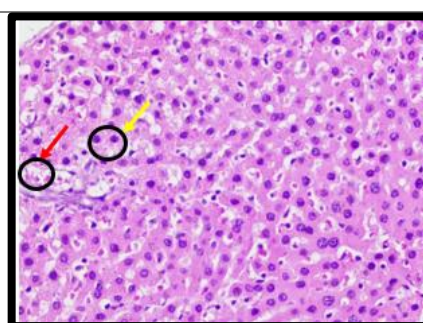
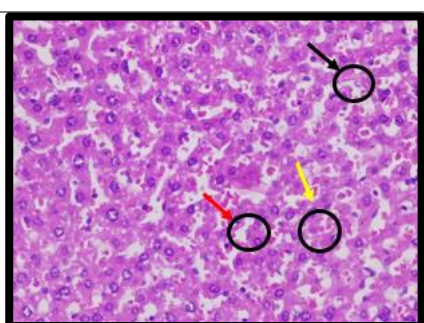
Histopatologi Organ Hati Pada Tikus (<i>Rattus novergicus</i>)	
Jantan	Betina
	
(K1)	



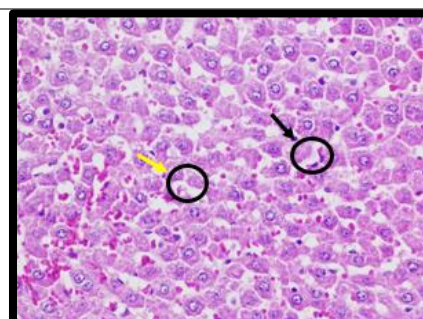
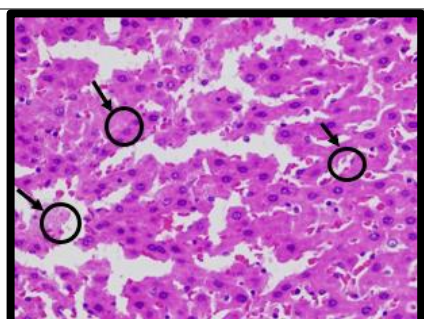
(K2)

Jantan

Betina



(K3)



(K4)

Keterangan:

K1 : Kelompok Kontrol (Na.CMC)

K2 : Kelompok Ekstrak Terpurifikasi Daun Pacar Kuku dosis 250 mg/kgBB

K3 : Kelompok Ekstrak Terpurifikasi Daun Pacar Kuku dosis 500 mg/kgBB

K4 : Kelompok Ekstrak Terpurifikasi Daun Pacar Kuku dosis 1000 mg/kgBB

➡ : Nekrosis

➡ : Degenerasi lemak

➡ : Degenerasi Hidropik

Berdasarkan hasil pengamatan gambaran histopatologi (tabel 2) ditemukan bahwa organ hati tikus jantan dan betina pada semua kelompok perlakuan—yakni K1 (kontrol Na.CMC), K2 (dosis 250 mg/kgBB), K3 (dosis 500 mg/kgBB), dan K4 (dosis 1000 mg/kgBB)—mengalami

kerusakan pada sel hepatosit. Kerusakan ini ditandai dengan munculnya nekrosis, degenerasi lemak, serta degenerasi hidropik pada jaringan hati. Bahkan pada kelompok K1 (kontrol Na.CMC), baik tikus jantan maupun betina menunjukkan kerusakan sel hepatosit. Hal ini diduga berkaitan dengan proses apoptosis fisiologis, yaitu kematian sel terprogram yang secara alami terjadi pada semua sel normal sebagai bagian dari siklus hidup sel. Proses ini merupakan mekanisme alami tubuh untuk mengganti sel-sel tua dengan sel baru melalui regenerasi (Anggraeny *et al.*, 2014). Selain faktor fisiologis, kerusakan sel juga bisa dipengaruhi oleh aspek patologis maupun genetik dari hewan uji. Faktor patologis mencakup respons imun atau mekanisme pertahanan tubuh terhadap zat asing yang masuk, yang dapat memengaruhi morfologi dan struktur histologi hati (Syamsi Dhuha & Eka Putri, 2019)

Berdasarkan hasil pengamatan histopatologi, masing-masing kelompok perlakuan menunjukkan adanya kerusakan pada jaringan yang ditandai oleh perubahan seluler seperti nekrosis, degenerasi hidropik dan degenerasi lemak. Degenerasi hidropik merupakan tingkat kerusakan sel tahap kedua dan merupakan bentuk kerusakan yang paling umum terjadi akibat gangguan sel. Kondisi ini ditandai dengan akumulasi air dalam sel, sehingga menyebabkan sitoplasma dan organel membengkak dan bervakuola. Berdasarkan data dari tabel pengamatan histopatologi, kerusakan berupa degenerasi hidropik ditemukan pada hewan uji betina, khususnya pada kelompok yang menerima ekstrak daun pacar kuku terpurifikasi dengan dosis 250 mg/kgBB, 500 mg/kgBB, dan 1000 mg/kgBB. Hal ini diduga disebabkan oleh paparan toksin dari metabolit sekunder dalam ekstrak, yang mengganggu mekanisme transport aktif ion natrium keluar dari sel.

Konsentrasi tinggi dari metabolit sekunder dalam tumbuhan, seperti alkaloid dan saponin, dapat mengganggu permeabilitas membran hepatosit. Kerusakan pada membran sel menyebabkan terjadinya kebocoran, yang menghambat proses transport ion kalium (K^+) dari sel serta memungkinkan masuknya ion kalsium (Ca^{2+}), natrium (Na^+), dan air ke dalam sel. Akibat masuknya cairan ekstraseluler ke dalam sitoplasma, terjadi pembengkakan pada sitoplasma, mitokondria, serta retikulum endoplasma kasar (Taek *et al.*, 2020).

Degenerasi lemak merupakan bentuk kerusakan pada sel hepatosit yang ditandai dengan perubahan struktur morfologis dan penurunan fungsi hati akibat akumulasi lemak di dalam sitoplasma sel. Secara mikroskopis, kondisi ini ditandai dengan adanya bercak-bercak lemak kecil berwarna jernih. Proses ini dapat disebabkan oleh berbagai faktor seperti iskemia, anemia, paparan zat toksik, serta konsumsi lemak dan protein yang berlebihan. Jika berlangsung dalam jangka waktu lama, degenerasi lemak dapat berkembang menjadi gangguan fungsi hati yang lebih serius, termasuk fibrosis, penumpukan pigmen, hingga terjadinya hiperplasia nodular (Fitmawati *et al.*, 2018)

Degenerasi lemak yang terjadi pada perlakuan K2 dan K3 diduga diakibatkan oleh kandungan senyawa terpenoid dalam ekstrak terpurifikasi daun pacar kuku dalam dosis yang tinggi. Selain itu, perbedaan konsentrasi ekstrak serta frekuensi pemberian juga mempengaruhi kondisi morfologi hati. yang diberikan dengan intensitas pemberian yang berbeda juga dapat berpengaruh terhadap kondisi morfologi hati. Peningkatan intensitas paparan suatu zat terhadap organ tertentu dapat memicu perubahan struktur dan fungsi organ tersebut, yang umumnya bersifat reversibel atau dapat kembali normal apabila paparan dihentikan.

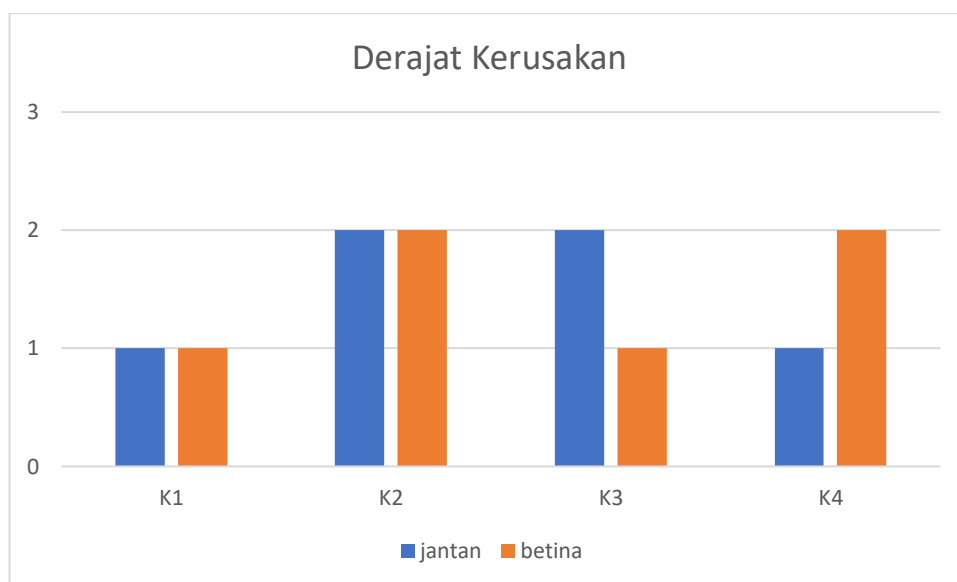
Nekrosis merupakan kematian sel atau jaringan pada mikroorganisme hidup yang dapat disebabkan oleh berbagai macam agen seperti infeksi agen biologis, gangguan metabolit dan zat

toksik (Sijid *et al.*, 2020). Nekrosis ditandai diawali perubahan pada inti sel Dimana inti sel menjadi hitam kemudian pecah dan menjadi sel mati (Adikara *et al.*, 2013). Hal ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh (Fahmi *et al.*, 2015), yang menyatakan bahwa nekrosis dapat menyebabkan perubahan pada inti sel yang ditandai dengan inti sel yang mengkerut, tidak tampak vesikuler, hilangnya struktur kromatin, sel menjadi pecah (karioreksis), hitam (piknosis) atau pucat (kariolisis). Piknosis yaitu penghitaman pada nukleus yang terjadi akibat kerusakan intraseluler, termasuk pada membrane sel, mitokondria dan apparatus golgi. Kerusakan ini menyebabkan sel kehilangan kemampuan untuk mengeliminasi trigliserida dan air sehingga kedua senyawa tersebut tertimbun didalam sitoplasma (Adikara *et al.*, 2013)

Berdasarkan hasil pengamatan gambar histopatologi pada hewan uji tikus jantan kelompok K3 yaitu pada dosis 500 mg/kgBB tidak mengalami kerusakan nekrosis. Hal ini diduga karena adanya kandungan alkaloid dan flavonoid dalam ekstrak terpurifikasi daun pacar kuku yang diberikan secara bertingkat. Flavonoid berfungsi sebagai antioksidan yang mampu memicu apoptosis atau kematian sel yang terprogram, di mana proses ini tidak merusak membran sel sehingga isi sel tidak memicu peradangan (Edy Suwandi, 2018). Ekstrak terpurifikasi daun pacar kuku memiliki senyawa yang berupa alkaloid bermanfaat sebagai anti kanker, hepatoprotektor, antimikroba, antikanker serta mampu meningkatkan aktivitas antioksidan. hepatoprotektor, anti-inflamasi, anti kanker, anti mikroba serta meningkatkan antioksidan. Alkaloid juga diketahui dapat menurunkan aktivitas lipoperoxidase di hati dan mencegah kerusakan akibat radikal bebas maupun senyawa kimia yang bersifat toksik (Untoro *et al.*, 2016).

Skoring Histopatologi Organ Hati Hewan Uji

Gambar 1 Skoring histopatologi jaringan hati pada semua kelompok



Keterangan:

K1 : Kelompok Kontrol (Na.CMC)

K2 : Kelompok Ekstrak Terpurifikasi Daun Pacar Kuku dosis 250 mg/kgBB

K3 : Kelompok Ekstrak Terpurifikasi Daun Pacar Kuku dosis 500 mg/kgBB

K4 : Kelompok Ekstrak Terpurifikasi Daun Pacar Kuku dosis 1000 mg/kgBB

Skor 1: Tidak ada atau sangat ringan (normal hingga perubahan minimal)

Skor 2: Ringan sampai sedang (terdapat perubahan histopatologis yang jelas, namun tidak berat)

Skor 3: Sedang sampai berat

Skor 4: Berat

Berdasarkan data Gambar 1, seluruh kelompok perlakuan menunjukkan derajat kerusakan histopatologis jaringan hati yang berada pada rentang skor 1 hingga 2, yang diklasifikasikan sebagai kerusakan ringan hingga sedang. Pada kelompok kontrol (K1), baik tikus jantan maupun betina menunjukkan skor kerusakan sebesar 1, yang menunjukkan bahwa jaringan hati berada dalam keadaan normal atau hanya mengalami kerusakan ringan. Kerusakan ini dapat disebabkan oleh stres fisiologis atau faktor lingkungan laboratorium. Sedangkan, pada kelompok perlakuan (K2, K3, dan K4), hasil pengamatan menunjukkan bahwa pemberian ekstrak terpurifikasi daun pacar kuku selama 28 hari menyebabkan perubahan histopatologis pada jaringan hati, meskipun derajat kerusakan yang diamati masih tergolong ringan. Perubahan tersebut dapat diamati secara mikroskopis meliputi nekrosis, degenerasi lemak dan degenerasi hidropik.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa selama 28 hari pemberian ekstrak terpurifikasi daun pacar kuku dengan dosis 250 mg/kgbb, 500 mg/kgbb dan 1000 mg/kgbb tidak ditemukan adanya tanda toksisitas secara klinis pada tikus seperti tremor, kelelahan, perubahan perilaku bahkan frekuensi berkemih yang diamati secara langsung. Namun, hasil pemeriksaan histopatologi jaringan hati menunjukkan adanya kerusakan ringan hingga sedang, yang dibuktikan dengan ditemukan nekrosis, degenerasi lemak dan degenerasi hidropik. Hal ini menunjukkan bahwa kerusakan sudah terjadi pada tingkat sel, meskipun belum menunjukkan tanda toksistas. Kondisi ini dapat terjadi Ketika suatu senyawa menyebabkan gangguan pada organ tapi belum parah sehingga belum cukup memberikan gejala toksisitas. Hal ini, dapat disebabkan karena hati memiliki kemampuan kompesasi dan regenerasi yang tinggi, sehingga mampu menjalankan fungsinya meskipun mengalami kerusakan ringan.

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Pemberian ekstrak terpurifikasi daun pacar kuku dengan dosis 250 mg/kgBB, 500 mg/kgBB dan 1000 mg/kgBB tidak memberikan gejala toksisitas secara klinis, namun berpengaruh terhadap Gambaran histopatologi hati tikus. Hal ini ditandai dengan ditemukannya kerusakan sel hati berupa nekrosis, degenerasi lemak dan degenerasi hidropik pada masing-masing kelompok perlakuan

Saran

Guna untuk mengembangkan penelitian ini sebaiknya dilakukan penelitian lanjutan terkait uji toksisitas kronis pada ekstrak terpurifikasi

DAFTAR PUSTAKA

- Adikara, I. P. A., Winaya, I. B. O., & Sudira, I. W. (2013). Studi Histopatologi Hati Tikus Putih (*Rattus Norvegicus*) Yang Diberi Ekstrak Etanol Daun Kedondong (*Spondias dulcis* G.Forst) SECARA ORAL. *Buletin Veteriner Udayana*, 5(2), 107–113.
- Anggraeny, E., Tjandrakirana, & Ducha, N. (2014). Pengaruh Pemberian Filtrat Tauge Kacang Hijau Terhadap Histologi Hepar Mencit Yang Terpapar MSG. 3(3), 186–191.

- <http://ejournal.unesa.ac.id/index.php/lenterabio>
- BPOM RI. (2022). Peraturan BPOM No 10 Tahun 2022 Pedoman Uji Toksisitas Praktikum Secara In Vivo. *Bpom Ri*, 490, 1–16.
- Edy Suwandi, S. (2018). Toksisitas Akut Ekstrak N-Heksan Dan Methanol Rimpang Heringau Merah Terhadap Kematian Artemia Salina Leach Dengan Metode Brine Shrimp Lethality Test. *Jurnal Laboratorium Khatulistiwa*, 2(2), 125–129.
- Fahmi, M., Fahrimal, Y., Aliza, D., Aisyah, S., Budiman, H., & Hambal, M. (2015). Gambaran Histopatologis Hati Tikus (*Rattus novergicus*) Yang Diinfeksi Trypanosoma Evansi Setelah Pemberian Ekstrak Kulit Batang Jaloh (*Salix tetrasperma* Roxb) (Histopathological Changes of Rat (*Rattus novergicus*) Liver Infected with Trypanosoma evansi and Treated with Willow Tree Bark Extract (*Salix tetrasperma* Roxb)). *Jurnal Medika Veterinaria*, 9(2), 141–145. <https://doi.org/10.21157/j.med.vet..v9i2.3824>
- Fatmawati, A., Rustiah, W. O., & S, S. (2019). Analisis Antibakteri Ekstrak Daun Pacar Kuku (*Lawsonia inermis* L) Terhadap Pertumbuhan Salmonella sp. *Jurnal Medika*, 4(2), 29–33. <https://doi.org/10.53861/jmed.v4i2.171>
- Fitmawati, Titrawani, & Safitri, W. (2018). Ekotonia. *Ekotonia: Jurnal Penelitian Biologi, Botani, Zoologi Dan Mikrobiologi*, 3(1), 11–19.
- Hambal, M., Efriyendi, R., Vanda, H., & Rusli, R. (2019). 34. Anatomical Pathology And Histopathological Changes Of Ascaridia Galli In Layer Chicken. *Jurnal Medika Veterinaria*, 13(2), 239–247. <https://doi.org/10.21157/j.med.vet..v13i2.14578>
- Husni, E., Suharti, N., & Atma, A. P. T. (2018). Characterization of crude drugs and henna leaves extract (*Lawsonia inermis* Linn) and determination of total phenolic content and antioxidant activity test. *Jurnal Sains Farmasi & Klinis*, 5(1), 12–16.
- Ifaya, M., Musfiroh, I., Sahidin, Susilawati, Y., Wilar, G., & Abdurahman, S. (2021). Potensi aktivitas antidiabetes fraksi dari ekstrak purifikasi. *Jurnal Internasional Farmasi Terapan*, 13(4), 89–94.
- Sijid, S. A., Muthiadin, C., Zulkarnain, Z., & Hidayat, A. S. (2020). Pengaruh Pemberian Tuak Terhadap Gambaran Histopatologi Hati Mencit (*Mus musculus*) ICR Jantan. *Jurnal Pendidikan Matematika Dan IPA*, 11(2), 193. <https://doi.org/10.26418/jpmipa.v11i2.36623>
- Syamsi Dhuha, N., & Eka Putri, H. (2019). Toksisitas Akut Ekstrak Etanol Daun Bidara (*Ziziphus spina-christi* L.) berdasarkan Gambaran Morfologi dan Histologi Hati Mencit Acute Toxicity of Bidara Leaf (*Ziziphus spina-christi* L.) Ethanol Extract based on Morphological and Histological Images of Mic. *J.Pharm.Sci*, 2(1), 43.
- Taek, A., Ndaong, N., & Gaina, C. (2020). Gambaran Histopatologi Hepar Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Jantan Pasca Pemberian Ekstrak Infusa Buah Pare (*Momordica charantia* L.) Lokal NTT. *Jurnal Veteriner Nusantara*, 3(2), 89–96. <http://ejournal.undana.ac.id/jvn>
- Untoro, M., Fachriyah, E., & Kusriani, D. (2016). Isolasi dan Identifikasi Senyawa Golongan Alkaloid dari Rimpang Lengkuas Merah (*Alpinia purpurata*). *Jurnal Kimia Sains Dan Aplikasi*, 19(2), 58–62. <https://doi.org/10.14710/jksa.19.2.58-62>