

Efek Toksisitas Akut Ekstrak Daun Paku Sisik Naga (*Drymoglossum piloselloides* (L.) Presl) terhadap Nilai Darah Mencit Putih (*Mus musculus* L.)

Acute Toxicity Effects of Leaf Extract Dragon Scales Fern (*Drymoglossum piloselloides* (L.) Presl) on Hematological Values of Albino Mice (*Mus musculus* L.)

Yuliasuti^{*)}, Resti Rahayu, Efrizal

Laboratorium Riset Fisiologi, Jurusan Biologi, FMIPA Universitas Andalas, Kampus UNAND Limau Manis Padang_25163

^{*)}Koresponden: yuliasuti1006@gmail.com

Abstract

The acute toxicity effects of leaf extract of dragon scales fern (*Drymoglossum piloselloides* (L.) Presl) on hematological values of male albino mice (*Mus musculus* L.) has been tested at the Laboratory Animal Physiology. The experiment tested extract dose from 50 to 200 mg/Kgbw on hematological values of male albino mice. The treatments used a randomized block design method. The mice were injected by the leaf extract at several doses: i.e. 0 mg/Kgbw, 50 mg/Kgbw, 100 mg/Kgbw, 150 mg/Kgbw and 200 mg/ Kgbw. The blood were collected at 24 hours after treatment and hematological values have been examined including number of red and white blood cell, hematocrite, hemoglobin concentration (Hb), plasm protein concentration, absolute blood indices, diameter and morphology of eritrocyte. The results showed that the leaf extract of *D. piloselloides* gave no acute toxicity effect of hematological values.

Keywords: *Drymoglossum piloselloides*, hematology, acute toxicity

Pendahuluan

Paku sisik naga (*Drymoglossum piloselloides*) adalah salah satu tumbuhan yang berpotensi sebagai obat herbal (Dalimartha, 2005). Paku sisik naga memiliki kandungan metabolit sekunder seperti triterpen, polifenol, fenol, flavonoid, saponin, tannin, minyak atsiri dan glikosida (Anjelisa, 2011; Hariana, 2006). Kandungan flavonoid, tanin dan sterol berfungsi sebagai antikanker, antioksidan kuat, dan antiperadangan (Ren *et al.*, 2003), antiproliferatif terhadap sel SiHa (Suwarni, 2009), sebagai antioksidan (Anjelisa, 2011), mencegah terjadinya peroksidasi lipid hati (Malinda, 2013) dan memiliki efek sitotoksik terhadap sel leukemia (Sahid, 2013).

Penelitian mengenai manfaat ekstrak daun paku sisik naga (*D. piloselloides*) telah banyak dilakukan, namun penelitian mengenai tingkat keamanannya sebagai obat-obatan masih sangat terbatas. Menurut Japaries (2010) obat herbal memiliki efek toksik jika digunakan tidak sesuai dosis

aman. Baumann (1999) dan Tilak (2005) menyatakan bahwa saponin dan fenol dapat menyebabkan hemolisis pada darah. Oleh karena itu untuk mengetahui keamanan suatu obat yang akan digunakan dapat dilakukan uji efek toksisitas akut, karena efek zat toksik dari bahan obat dapat bekerja secara cepat (akut) (Casarett and Doull, 1975).

Auletta (2002) menyatakan bahwa komponen darah merupakan salah satu aspek dari sistem fisiologis yang dapat ditelaah dalam uji efek toksisitas akut. Hasil penelitian Malinda (2013) memperlihatkan bahwa dosis efektif ekstrak paku sisik naga yang dapat mencegah proses peroksidasi lipid hati adalah 97,02 mg/KgBB, namun tingkat keamanan ekstrak paku terhadap nilai darah mencit pada dosis tersebut belum diketahui. Mengacu kepada penelitian Malinda (2013) dilakukan penelitian lanjutan untuk melihat efek toksisitas akut ekstrak daun paku sisik naga terhadap nilai darah mencit putih (*Mus musculus*).

Metodologi Penelitian

Penelitian ini menggunakan metode eksperimen rancangan acak kelompok (RAK), dengan lima perlakuan dan lima ulangan. Perlakuan pemberian dosis ekstrak daun paku sisik naga berdasarkan kepada Malinda (2013): P0: 0 mg/KgBB, P1: 50 mg/KgBB, P2: 100 mg/KgBB, P3: 150 mg/KgBB, P4: 200 mg/KgBB. Pembuatan ekstrak etanol daun paku sisik naga berdasarkan pada penelitian Yunita (2006). Pengelompokan didasarkan kepada kelompok hari yang berbeda pada setiap ulangan dengan 25 unit percobaan yang akan dilakukan.

Hewan uji mencit putih jantan dengan usia 2-3 bulan dan berat badan 25-30 gram dipelihara dan diberi makan dan minum secara *ad libitum* (Siglin and Baker, 2002). Selanjutnya ekstrak paku sisik naga diberikan secara intraperitoneal (Casarett and Doull, 1975) kepada mencit satu kali per individu sesuai dosis perlakuan. Sampel darah mencit dikoleksi setelah 24 jam pemberian ekstrak. Mencit dengan cara disklokasi *vertebra cervicalis* kemudian diambil darahnya pada akhir perlakuan dengan dekapitasi dan menyedot darah dari vena jugularis serta jantung dengan jarum sedot darah (*syringe needle*) yang telah dibilas EDTA 10 % (Simmon, 1980). Jumlah eritrosit dan jumlah leukosit dihitung menggunakan hemositometer *improved neubauer*. Hematokrit disentrifus dengan menggunakan sentrifus jenis Kubota Haematocrit KH-120 dengan kecepatan 12.000 rpm selama 5 menit. Kadar hemoglobin dihitung dengan menggunakan metode sahli. Kadar protein plasma total darah ditentukan dengan menggunakan refraktometer jenis Atago SPRN tipe VC 1,00-1050. Pengamatan diameter dan morfologi eritrosit dilakukan pada preparat apusan darah. Indeks absolut darah seperti *mean corpuscular volume* (MCV), *mean corpuscular hemoglobin* (MCH), dan *mean corpuscular hemoglobin contentration* (MCHC) dihitung menggunakan rumus yang mengacu kepada (Simmons, 1980).

Morfologi eritrosit merupakan data kualitatif sedangkan data kuantitatif berupa

hasil pengukuran nilai darah. Data dianalisis dengan membandingkan antara kelompok kontrol dan perlakuan. Data kualitatif diuraikan secara deskriptif, sedangkan data kuantitatif diuji statistik menggunakan anova dan uji lanjut duncan pada taraf 5% (Steel and Torrie, 1995).

Hasil dan Pembahasan

Efek Ekstrak Daun Drymoglossum piloseloides terhadap Nilai Darah

Pemberian ekstrak daun *D. piloseloides* satu kali per individu pada mencit jantan ternyata tidak memperlihatkan perbedaan yang signifikan antara kontrol dan yang diberi perlakuan terhadap semua parameter nilai darah ($P > 0,05$) (Lampiran 2). Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak daun *D. piloseloides* tidak memberikan efek toksisitas akut. Efek toksisitas akut terhadap nilai darah tidak ada dikarenakan dosis dan frekuensi yang digunakan tidak terlalu tinggi, sehingga tidak menyebabkan perubahan. Ini membuktikan bahwa dosis yang diberikan masih aman pada nilai darah. Obat dikatakan dapat menyebabkan efek toksisitas akut jika dalam waktu 24 jam setelah pemberian obat terlihat ada perubahan yang drastis pada fisiologi tubuh. Menurut Casarett and Doull (1975) efek toksisitas akut akan terlihat setelah pemberian zat kimia dalam waktu 24 jam. Selain itu Efek suatu obat juga akan berkurang didalam tubuh karena obat mengalami proses eliminasi (eksresi). Hal ini sesuai menurut Goodman and Gilman (2012) yang menyatakan bahwa obat didalam tubuh akan di ekskresikan melalui organ ekskresi, hal ini menyebabkan konsentrasi obat didalam tubuh berkurang.

Walaupun perlakuan dan kontrol tidak berbeda, namun terdapat variasi jumlah eritrosit, nilai hematokrit, diameter eritrosit, MCV, MCH, MCHC, hemoglobin, protein plasma dan leukosit pada setiap perlakuan (Tabel 1). Variasi nilai pada parameter yang diukur pada penelitian ini hanya sebatas respon fisiologis yang berbeda pada setiap hewan uji. Sesuai menurut Florence (2010) yang menyatakan bahwa perbedaan kondisi fisiologi seperti diet, *fasting*, efek irama sirkadian dapat

mempengaruhi pengukuran nilai darah. Sari (2009) yang menambahkan bahwa pada hewan uji terdapat perbedaan respon dalam menanggapi efek obat.

Efek Ekstrak Daun Drymoglossum piloseloides terhadap Morfologi Eritrosit
Morfologi eritrosit setelah 24 jam pemberian ekstrak terlihat pada Gambar 1. Pada kontrol (Gambar.1 P0) morfologi masih terlihat bulat dan bikonkaf. Campbell *et al.*, (2005) menyatakan bahwa eritrosit normal berbentuk cawan bikonkaf. Namun pada perlakuan pemberian ekstrak ditemukan perubahan morfologi eritrosit yang dapat dilihat pada (Gambar.1 P1, 1 P2, 1 P3, 1 P4). Perlakuan dosis 50 mg/kgBB ditemukan eritrosit yang abnormal yaitu berbentuk tetesan air mata (*teardrop cell*). Pada perlakuan dosis 100 mg/kgBB eritrosit berubah bentuk menjadi *leptositosys*. *leptositosys* adalah eritrosit berbentuk pipih akan meningkatkan luas permukaan tetapi volume tetap. Pada perlakuan dosis 150 mg/kgBB ditemukan eritrosit yang berukuran kecil yang disebut mikrosistik. Menurut Sacher (2004) mikrosistik adalah ukuran eritrosit yang lebih kecil dari normal. Pada perlakuan dosis 200 mg/kgBB terdapat tiga perubahan bentuk eritrosit yaitu *leptositosys*, *teardrop cell*, dan mikrosistik.

Meskipun adanya perbedaan

morfologi eritrosit pada masing-masing perlakuan, namun perubahan yang ditemukan masih sedikit. Hal ini membuktikan bahwa pemberian ekstrak *D. piloseloides* pada rentang dosis 50 sampai 200 mg/kgBB dalam waktu 24 jam masih aman untuk tubuh karena jumlah eritrosit yang berubah hanya sedikit. Menurut Leong and Soon-keng (2006) tubuh dikatakan mengalami gangguan jika morfologi eritrosit tersebut mengalami perubahan hampir seluruhnya. Perubahan morfologi eritrosit yang sedikit mengindikasikan bahwa dampak negatif ekstrak *D. piloseloides* belum terlalu besar terhadap morfologi eritrosit pada rentang dosis yang diberikan. Kemungkinan jika dosis ditingkatkan diduga akan terjadi perubahan morfologi eritrosit yang lebih banyak dan membahayakan bagi tubuh.

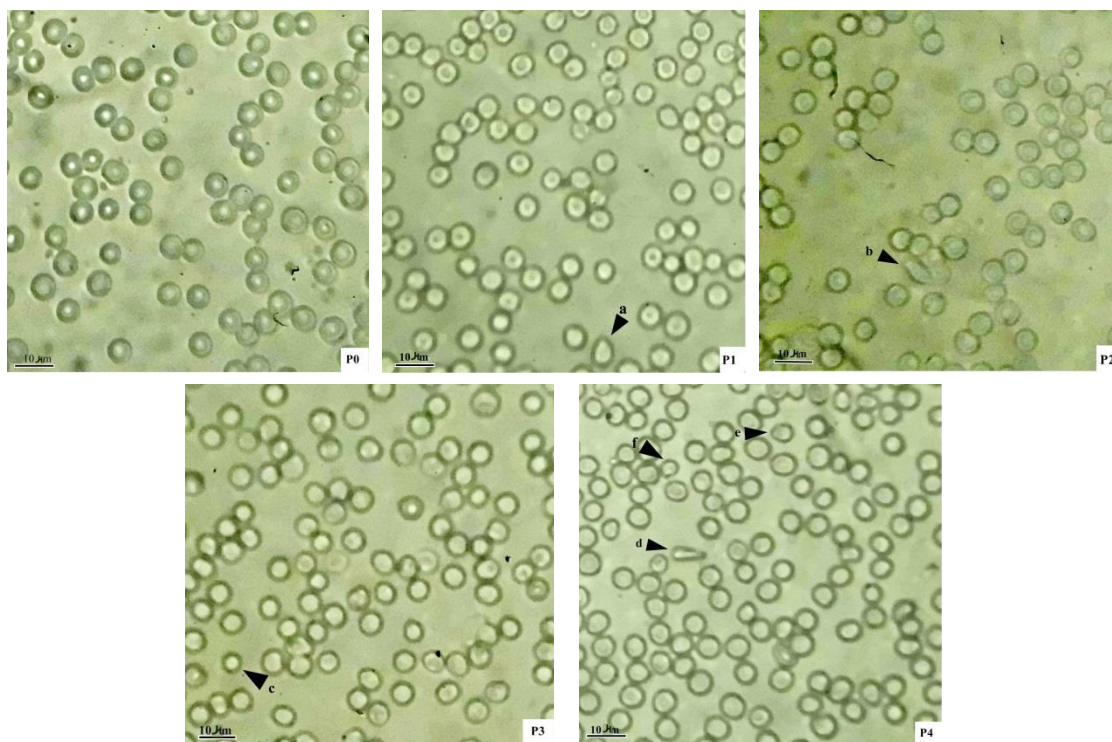
Kesimpulan

Ekstrak *D. piloseloides* pada dosis 50, 100, 150, dan 200 mg/kgBB tidak menyebabkan efek toksisitas akut secara nyata terhadap nilai darah mencit putih jantan. Dosis 50 mg/kgBB hingga 200 mg/kgBB dari ekstrak *D. piloseloides* tidak menyebabkan efek toksisitas akut, rentang dosis ini termasuk aman terhadap nilai darah

Tabel 1. Rata-rata nilai darah mencit setelah 24 jam diberikan ekstrak *D. piloseloides*

Dosis Ekstrak (mg/kg BB)	Jumlah eritrosit ± SE (10 ⁶ /mm ³)	Nilai Hematokrit ± SE (%)	Diameter ± SE (µm)	MCV (fl) ± SE	Kadar hemoglobin ± SE (g/dl)	MCH ± SE (pg)	MCHC ± SE (%)	Jumlah leukosit ± SE (sel/mm ³)	Kadar protein plasma ± SE (g/dl)
P0 (0)	8,7 ± 0,03 ^a	46,8 ± 1,20 ^a	5,7 ± 0,23 ^a	55,2 ± 0,81 ^a	12,4 ± 0,41 ^a	14,6 ± 0,24 ^a	27,0 ± 1,57 ^a	3670,0 ± 0,40 ^a	5,9 ± 0,60 ^a
P1 (50)	8,4 ± 0,03 ^a	47,2 ± 0,50 ^a	5,5 ± 0,40 ^a	57,7 ± 0,88 ^a	12,3 ± 0,45 ^a	15,0 ± 0,25 ^a	26,0 ± 0,64 ^a	3660,0 ± 0,73 ^a	5,9 ± 0,30 ^a
P2 (100)	7,3 ± 0,02 ^a	48,3 ± 1,40 ^a	6,7 ± 0,27 ^a	66,2 ± 1,16 ^a	12,0 ± 0,70 ^a	16,7 ± 0,30 ^a	24,8 ± 1,17 ^a	3712,5 ± 0,62 ^a	5,7 ± 0,24 ^a
P3 (150)	7,9 ± 0,06 ^a	45,8 ± 1,30 ^a	6,4 ± 0,39 ^a	63,8 ± 2,52 ^a	12,4 ± 0,50 ^a	16,7 ± 0,59 ^a	27,7 ± 2,56 ^a	4320,0 ± 0,98 ^a	5,6 ± 0,22 ^a
P4 (200)	8,1 ± 0,04 ^a	45,6 ± 1,50 ^a	6,3 ± 0,13 ^a	60,0 ± 1,66 ^a	12,1 ± 0,22 ^a	15,6 ± 0,35 ^a	26,8 ± 1,90 ^a	4650,0 ± 0,87 ^a	5,7 ± 0,16 ^a

Keterangan : SE : Standar Error; nilai yang diikuti oleh huruf kecil yang sama pada kolom yang berbeda, tidak berbeda nyata pada taraf 5%, MCV : *Mean corpuscular volume* (rata-rata volume eritrosit), MCH : *Mean corpuscular hemoglobin* (rata-rata berat hemoglobin per unit eritrosit), MCHC: *Mean corpuscular hemoglobin concentration* (rata-rata konsentrasi hemoglobin persatuan volume total eritrosit)



Gambar 1. Morfologi eritrosit *Mus musculus* setelah 24 jam pemberian ekstrak *D.piloselloides* dengan perbesaran 40 x 10. **P0**. Kontrol, **P1**. Dosis 50 mg/kg BB, **a**. teardrop cell, **P2**. Dosis 100 mg/kg BB, **b**. *Leptosytosis*, **P3**. Dosis 150 mg/kg BB, **c**. mikrosistik **P4**. Dosis 200 mg/kg BB, **d**. *Leptosytosis*, **e**. *Leptosytosis*, **f**. mikrosistik

Daftar Pustaka

- Auletta, C. S. 2002. Acute, subchronic, and Chronic Toxicology. In : M. J. Derelanko, M. A. Hollinger (Eds). *A Text book of toxicology 2nd Edition*. Florida. CRC Press.
- Anjelisa, P. Z dan A. Dalimunthe. 2011. Uji Aktifitas Ekstrak Ethanol Daun Sisik Naga (*Drymoglossum piloselloides* [L] Pres). *Prosiding Seminar Biologi*. Medan
- Baumann, E., G. Stoya., A. V. Ikner., W. Richter1., C. Lemke, and W. Linss. 1999. *Hemolysis of Human Erythrocytes with Saponin Affects the Membrane Structure*. Institut für Anatomie I und I Institut für Ultrastrukturforschung des Klinikums der Friedrich-Schiller-Universität, Teichgraben 7, D-07743 Jena. Germany.
- Florence, M., Poitout - Belissent and Jeffrey E. McCartney. 2010. Interpretation of Hematology Data in Preclinical Toxicological Studies. In : Weiss D., J., and K.,J., Wardrop. *Schalm's Veterinary Hematology 6th edition*. Wiley-Blackwell. Singapore.
- Campbell, N. A., J. B. Reece, dan L. G. Mitchell. 2005. *Biologi Edisi Kelima Jilid 3*. Erlangga. Jakarta.
- Casarett and Doull's. 2008. *Toxicology Basic Science Of Poisons*. The McGraw-Hill. New York.
- Dalimartha, S. 2005. *Tanaman Obat di Lingkungan Sekitar*. Puspa Swara. Jakarta.
- Goodman and Gilman. 2012. *Dasar Farmakologi Terapi Vol 1 Edisi Kesepuluh*. EGC. Jakarta
- Hariana, A. 2006. *Tumbuhan Obat dan Khasiatnya*. Penebar Swadaya. Jakarta.
- Leong, C. and S. K. Cheong. 2006. Reduction of Tear-Drop Poikilocytes in a Case of Myelofibrosis Following Splenectomy. *Med & Health*. 1(1): 81-84

- Malinda, A., Fauzia, Fatimawali, Adithya. Y. 2013. Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Daun Paku Sisik Naga (*Drymoglossum piloselloides* l.presl) terhadap Peroksidasi Lipid Hati pada Tikus Jantan galur wistar Yang diinduksi CCl4. *PHARMACON*. 2 (2) 72-75
- Ren, W., Qiao. Z., Wang. H., Zhu. L., Zhang. L., 2003. Flavonoids: Promising Anticancer Agents. *Medicinal research Reviews*. 23 (4): 519-534
- Rogers, K. 2011. *Blood Physiology and Circulation*. Britannica Educational Publishing. New York
- Sahid, A., D. Pandiangan., P. Siahaan., dan M. J. Rumondor. 2013. Uji Sitotoksitas Ekstrak Metanol Daun Sisik Naga (*Drymoglossum piloselloides* Presl.) terhadap Sel Leukemia P388. *JURNAL MIPA UNSRAT ONLINE* 2(2) 94-99
- Santoso, P. 2005. Efek toksisitas Akut Alkaloid ethyl-3 stephania hernandifolia walp. terhadap Nilai Darah mencit putih (*Mus musculus* L.). *Skripsi*. Jurusan Biologi. FMIPA. Universitas Andalas Padang
- Sari, Z. 2009. Uji Teratogenitas Ekstrak *Peperomia pellucida* (L.) Kunth terhadap organ visceral embrio mencit putih (*Mus musculus* L.) *Skripsi*. Jurusan Biologi. FMIPA. Universitas Andalas Padang
- Sacher. R. A and R. A. Mcphrenson. 2004. *Tinjauan Klinis Hasil Pemeriksaan, Laboratorium*. Alih Bahasa : Brahm U. Pendit. Dewi Wulandari. Editor Edisi bahasa Indonesia : Huriawati Hertanto. Edisi 11. EGC. Jakarta
- Siglin, J. C and W. H. Baker. 2002. *Laboratory Animal Management*. In : M. J. Derelanko, M. A. Hollinger (Eds). *A Text book of toxicology 2nd Edition*., CRC Press. Florida.
- Simmons, A. 1980. *Technical Hematology 3th Edition*. JB. Lippincott company. Phi- ladelphia
- Steel, R. G. D and J. H. Torrie. 1995. *Prinsip dan Prosedur Statistika*. Gramedia Pustaka Utama. Jakarta
- Yunita, E., Astrid, N. H. Suprapti dan J. W. Hidayat. 2006. Pengaruh Ekstrak daun Teklan (*Eupatorium riparium*) terhadap Mortalitas dan Perkembangan Larva *Aedes aegypti*. *Bioma* 11(1):11-17