

## Uji Toksisitas Dan LD<sub>50</sub> Fraksi N-Heksana Koro Benguk (*Mucuna pruriens* L.) Pada Mencit Jantan

Syafa Nur Oktaviani<sup>1</sup>, Eka Wisnu Kusuma<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Prodi D3 Farmasi <sup>2</sup>Prodi S1 Farmasi, Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Nasional, Indonesia

Email : [kusuma.3ka@gmail.com](mailto:kusuma.3ka@gmail.com)

### ABSTRAK

Koro benguk ialah tanaman tropis yang banyak terdapat di seluruh Indonesia, namun pemanfaatannya masih terbatas. Kegunaan tanaman ini antara lain antibakteri, menurunkan kadar asam urat, antikanker, antidiabetes, meredakan penyakit batu ginjal sehingga perlu dilakukan penelitian tentang tingkat keamanannya. Tujuan penelitian ini adalah untuk menghitung nilai LD<sub>50</sub> senyawa yang dapat diketahui dalam waktu 24 jam setelah diberi dosis tunggal. Pemberian fraksi n-heksan koro benguk dilakukan secara oral pada mencit, terdapat 4 kelompok yaitu kelompok 1 diberi Na-CMC sebagai kontrol, kelompok II dosis fraksi n-heksana 2000 mg/kgBB, kelompok III dosis fraksi n-heksana 2500 mg/KgBB dan kelompok IV dosis fraksi n-heksana 3200 mg/KgBB. Hasil studi memperlihatkan fraksi n-heksana koro benguk (*Mucuna pruriens* L.) menimbulkan efek toksik pada dosis 2500 mg/KgBB dan dosis 3200 mg/KgBB terdapat 1 hewan uji yang mati. Hasil perhitungan LD<sub>50</sub> adalah 3688,077 mg/kg BB masuk golongan toksik sedang dengan gejala yang muncul ialah mencit menjadi pasif dan diare.

**Kata kunci :** Uji toksisitas akut, koro benguk (*Mucuna pruriens* L.), pengamatan gejala toksik, LD<sub>50</sub>

### ABSTRACT

Koro Benguk is a tropical plant that is widely available throughout Indonesia, but its use is still limited. The uses of this plant include antibacterial, gout, cancer, diabetes, kidney stones, and others, so it is necessary to do research on the level of safety. The purpose of this study was to calculate the LD<sub>50</sub> value of the compound that could be detected within 24 hours after being given a single dose. The n-hexana fraction was administered orally to mice where there were 4 groups, namely group 1 given Na-CMC as a control, group II at a dose of 2000 mg/kgBW, group III 2500 mg/KgBW and group IV 3200 mg/KgBW. The results showed that the n-hexana fraction of koro benguk (*Mucuna pruriens* L.) caused a toxic effect at a dose of 2500 mg/KgBW and at a dose of 3200 mg/KgBW, 1 test animal died. The results of the calculation of LD<sub>50</sub> is 3688.077 mg/kg BW including moderate toxic category with symptoms that arise, namely mice become passive, and diarrhea.

**Keywords :** Acute toxicity test, koro benguk (*Mucuna pruriens* L.), observation of toxic symptoms, LD<sub>50</sub>

## PENDAHULUAN

Pengobatan tradisional dilakukan oleh masyarakat dengan menggunakan tumbuhan yang secara empiris memiliki manfaat yang baik bagi tubuh. Indonesia memiliki berbagai tanaman herbal yang berpotensi menjadi obat. Menurut Syukur dan Hernani, (2003) sebesar 74% tanaman obat ditemukan tumbuh liar di hutan sedang sisanya sudah dilakukan budidaya, bahkan lebih dari 940 jenisnya digunakan sebagai obat tradisional seperti kacang koro benguk.

Koro benguk merupakan tanaman tropis yang banyak terdapat di seluruh Indonesia, seperti Jawa, Bali, Sumatera, Sulawesi Utara dan Maluku (Ningsih dkk., 2011; Khosideh, 2017). Meski banyak tersebar luas di Indonesia, namun tanaman koro benguk pemanfaatannya masih sangat terbatas. Kegunaan tanaman ini antara lain antibakteri, menurunkan kadar asam urat, antikanker, antidiabetes, meredakan penyakit batu ginjal sehingga perlu dilakukan penelitian tentang tingkat keamanannya. Untuk penggunaan tradisional, penggunaan simplisia, atau fitofarmaka dibutuhkan pengetahuan tentang keamanan pemakaian obat tradisional. Menurut Lu (1995), guna menilai keamanan itu butuh dilaksanakan uji toksisitas akut.

Data terkait tingkat kemanan fraksi n-heksana koro benguk belum ditemukan, maka dengan dasar tersebut dan mempertimbangkan manfaat fraksi n-heksana biji koro benguk yang akan dimanfaatkan sebagai pengembangan obat, maka harus diuji toksisitas fraksi n-heksana koro benguk. Penelitian ini bertujuan untuk menentukan dosis letal akut fraksi n-heksana koro benguk menggunakan mencit putih sebagai hewan coba

## METODE PENELITIAN

### Alat dan Bahan

Alat yang digunakan antara lain tabung reaksi, kertas saring, wadah maserasi, batang pengaduk, cawan porselin, *rotary evaporator*

(IKA RV 10), corong pisah, timbangan hewan uji, spidol permanen, oral sonde.

Bahan utama yaitu biji koro benguk, mencit putih jantan (*Mus musculus*), etanol 70%, Na-CMC, serbuk magnesium, n-heksana, HCl P, pereaksi Dragendroff,  $\text{CHCl}_3$ , Lieberman burchard,  $\text{FeCl}_3$ .

### Preparasi biji koro benguk

Biji koro benguk disortasi basah yaitu memisahkan bahan yang akan digunakan dipisah dengan bahan yang tidak terpakai selanjutnya dicuci bersih serta dikeringkan di bawah sinar matahari 2 hari. Kemudian dihaluskan menggunakan blender lalu disaring menggunakan ayakan *mesh* nomor 40 untuk memperoleh serbuk simplisia.

### Ekstraksi biji koro benguk

Sampel biji koro benguk sebanyak 1kg dimasukkan ke dalam wadah maserasi kemudian dilakukan maserasi 3 hari dan remaserasi selama 2 hari. Selanjutnya hasil maserasi diuapkan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu  $50^\circ\text{C}$  lalu diuapkan dengan *waterbath* pada suhu  $50^\circ\text{C}$  sampai diperoleh ekstrak kental koro benguk.

### Fraksinasi biji koro benguk

Hasil ekstrak etanol biji koro benguk yang sudah kental dilakukan fraksinasi menggunakan n-heksana, didapatkan hasil ekstrak fraksi n-heksana koro benguk sebesar 50 gram dilarutkan ke dalam 50 ml air diaduk hingga tercampur, selanjutnya difraksinasi menggunakan pelarut n-heksana. Fraksinasi dilakukan hingga didapatkan larutan berwarna bening. Hasil fraksi selanjutnya diuapkan dengan *waterbath* pada suhu  $50^\circ\text{C}$  hingga didapatkan fraksi yang kental.

## Uji kualitatif

### Uji alkaloid

Uji terhadap alkaloid dilakukan dengan penambahan reagen dragendrof pada tabung reaksi yang berisi fraksi n-heksana, terbentuk endapan coklat kemerahan, jingga menunjukkan positif mengandung senyawa alkaloid

### Uji flavonoid

Pada tabung reaksi yang berisi fraksi n-heksana ditambahkan serbuk Mg dan HCL pekat, terbentuk warna merah, kuning atau jingga menunjukkan fraksi n-heksana positif mengandung senyawa flavonoid

### Uji tanin

Pada tabung reaksi yang berisi fraksi n-heksana ditambahkan  $\text{FeCl}_3$ , terbentuk warna hijau kehitaman menunjukkan fraksi n-heksana positif mengandung senyawa tanin.

### Uji saponin

Pada tabung reaksi yang berisi fraksi n-heksana ditambahkan air dan HCL, terbentuknya buih menunjukkan fraksi n-heksana positif mengandung senyawa saponin.

### Uji steroid dan triterpenoid

Fraksi n-heksana dimasukkan ke dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan  $\text{CHCl}_3$  dan Liberman Burchard, terbentuk warna merah menjadi biru atau hijau menunjukkan fraksi n-heksana positif mengandung senyawa steroid, terbentuk cincin violet atau cincin coklat menunjukkan positif mengandung senyawa triterpenoid.

### Uji toksisitas akut

Pengujian toksisitas akut dilakukan dengan menggunakan hewan uji mencit jantan sebanyak 4 ekor mencit tiap kelompok. Hewan uji diberi fraksi n-heksana koro benguk

dilakukan secara oral pada mencit, terdapat 4 kelompok yaitu kelompok I diberi Na-CMC sebagai kontrol, kelompok II dosis fraksi n-heksana 2000 mg/kgBB, kelompok III dosis fraksi n-heksana 2500 mg/KgBB dan kelompok IV dosis fraksi n-heksana 3200 mg/KgBB. Hasil pengamatan dilakukan selama 24 jam untuk melihat reaksi hewan uji dan jumlah hewan yang mati.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Preparasi sampel biji koro benguk yang digunakan adalah biji koro benguk dalam bentuk segar yang dibeli dari Jeponan Manggung Ngemplak Boyolali. Biji koro benguk disortasi basah untuk mendapatkan biji koro benguk yang baik, biji koro benguk selanjutnya dicuci bersih dan dikeringkan di bawah sinar matahari selama 2 hari dengan ditutupi kain hitam untuk menyerap sinar ultraviolet yang bersifat merusak, kain hitam juga dapat membuat panas yang merata selama pengeringan sehingga kerusakan dan dekomposisi kandungan senyawa kimia dapat dicegah. Sampel yang sudah kering diblender sampai halus lalu disaring menggunakan ayakan mesh nomor 40 untuk mendapatkan serbuk simplisia.

Serbuk simplisia biji koro sebanyak 1 kg dimasukkan ke dalam wadah maserasi. Pelarut yang digunakan pada maserasi ialah etanol 70% yang bertujuan untuk menarik seluruh komponen kimia pada koro benguk. Pelarut etanol merupakan pelarut universal yang dapat menarik senyawa yang larut pada pelarut non polar sampai polar serta berindeks polaritas yakni 5,2 (Padmasari dkk., 2013). Sampel ditambahkan etanol 70% sebanyak 7500 mL. Maserasi dilakukan dalam wadah yang tertutup rapat selama 3 x 24 jam sambil diaduk sekali-sekali per hari. Maserat yang diperoleh disaring (filtrat 1) lalu sisanya diekstraksi lagi dengan etanol 70% sebanyak

2500 mL selama 2 x 24 jam lalu disaring (filtrat 2). Filtrat 1 dan filtrat 2 digabungkan kemudian diuapkan dengan *rotary evaporator* pada suhu 50°C. Ekstrak yang diperoleh diuapkan dengan menggunakan *waterbath* pada suhu 40°C sampai diperoleh ekstrak kental. Ekstrak kental koro benguk yang diperoleh berwarna coklat kehitaman, bentuk ekstrak kental dan bau khas koro benguk.

Ekstrak kental biji koro benguk lalu difraksinasi dengan pelarut yang memiliki kepolaran berbeda yaitu n-heksana. Sebelumnya ditimbang sebanyak 50 gram ekstrak etanol koro benguk dilarutkan ke dalam 50 mL air diaduk hingga homogen, bila ada endapan maka dilakukan penyaringan. Selanjutnya dilakukan fraksinasi dengan pelarut non polar yakni n-heksana 50 ml dan diperoleh fraksi n-heksana serta fraksi air. Fraksinasi dilakukan sampai diperoleh larutan bening dengan 50 ml pelarut n-heksana dan bertujuan untuk mengoptimalkan pemisahan senyawa (Hasanah et al., 2017). Hasil fraksinasi selanjutnya diuapkan di atas *waterbath* pada suhu 50°C untuk menghasilkan fraksi yang kental.

### Skrining fitokimia ekstrak koro benguk

Skrining fitokimia dilakukan dalam tabung reaksi untuk mengidentifikasi kandungan senyawa metabolit sekunder suatu bahan alam. Skrining fitokimia yang dilakukan pada penelitian ini antara lain alkaloid, flavonoid, tanin, saponin, steroid dan triterpenoid. Hasil skrining fitokimia fraksi n-heksana koro benguk dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1 Hasil uji skrining fitokimia fraksi n-heksana koro benguk

No	Pengamatan	Hasil
1	Alkaloid	+
2	Flavonoid	-
3	Tanin	+

4	Saponin	-
5	Triterpenoid	+
6	steroid	-

Keterangan (+) : positif (-) : negatif

Hasil skrining fitokimia senyawa alkaloid koro benguk dalam fraksi n-heksana ditandai dengan perubahan warna dari bening menjadi jingga. Prinsip dasar uji dragendroff ialah senyawa alkaloid akan membentuk senyawa kompleks dengan logam  $Bi^{+3}$  yang menyebabkan perubahan warna menjadi jingga sebab bereaksi dengan tetraiodobismut (Khosideh, 2017).

Hasil uji tanin fraksi n-heksana koro benguk positif mengandung senyawa tanin. Timbul warna hijau kehitaman atau biru tinta dalam fraksi n heksana setelah ditambah  $FeCl_3$  menunjukkan ada senyawa tanin, sebab tanin akan membentuk senyawa kompleks dengan ion  $Fe^{3+}$

Hasil uji steroid dan triterpenoid positif ditandai dengan cincin berwarna kecoklatan atau cincin violet. Perubahan warna ini diakibatkan reaksi oksidasi golongan steroid atau triterpenoid melalui pembentukan ikatan rangkap terkonjugasi (Tomahayu, 2014 dan Khosideh, 2017).

### Uji toksisitas akut koro benguk

Uji toksisitas akut merupakan bagian dari uji praklinik yang dirancang untuk mengukur efek toksik suatu senyawa. Toksisitas akut berpatokan pada efek toksik yang terjadi sesudah pemberian dosis tunggal per oral selama 24 jam (Mustapa et al., 2015). Studi ini digunakan uji toksisitas akut dimana uji ini digunakan untuk menghitung nilai toksik atau nilai  $LD_{50}$ .

Hewan uji yang digunakan ialah 16 mencit jantan, berumur 6-8 minggu dengan berat badan 15-30 g. Lalu mencit dikelompokkan secara acak menjadi 4 kelompok, setiap kelompok terdiri dari 4 ekor.

Sebelum pengujian dilakukan terlebih dulu mencit diaklimatasi selama 3 hari untuk mengadaptasikan mencit dengan lingkungan.

Hewan uji juga dipuaskan dahulu kurang lebih satu malam bertujuan untuk mengetahui bobot sesungguhnya hewan uji yang akan diberikan sediaan. Setelah itu mencit diberi fraksi n-heksana koro benguk dalam bentuk suspensi dengan satu kali pemberian selama 24 jam dan dosis yang digunakan ialah 2000 mg/kgBB, 2500 mg/kgBB dan 3200 mg/kgBB. Fraksi n-heksana koro benguk ditambahi dengan Na-CMC yang berfungsi sebagai *suspending agent*. Setelah itu, sediaan uji diambil sesuai dosis yang telah ditentukan yaitu dosis 2000 mg/kgBB 0,34mL, 0,40 mL, 0,49 mL dan 0,31 mL kemudian dosis 2500 mg/kgBB 0,38 mL, 0,32 mL, 0,24 mL, dan 0,62ml yang terakhir dosis 3200 mg/kgBB

0,28 mL, 0,3 mL, 0,35 mL, 0,26 mL untuk diberikan ke mencit putih jantan per oral. Alasan diberikan dalam bentuk suspensi yaitu untuk memudahkan pemberian kepada hewan uji per oral dan karena fraksi tersebut tidak larut sempurna dalam air, sehingga perlu disuspensikan. Sesudah pemberian dosis pada tiap kelompok, hewan uji belum bisa diberikan makan sampai 4 jam sesudah waktu pemberian. Seluruh kelompok hewan uji diamati gejala ketoksikan yang terjadi pada 30 menit, 4 jam setelah perlakuan dan dalam jangka selang waktu 24 jam, jika ada hewan uji yang mati dicatat. Pada uji ini dilakukan pengamatan gejala toksisitasnya yang meliputi perubahan tingkah laku, feses, tremor dan perubahan berat badan. Hasil uji toksisitas biji koro benguk dapat dilihat pada Tabel 2

Tabel 2. Pengamatan gejala toksik

kelompok	replikasi	Pengamatan 30 menit		Pengamatan 4 jam		Pengamatan 24 jam Hewan uji mati
		Tingkah laku	feses	Tingkah laku	feses	
I Normal CMC Na 0,5%	1	N	N	N	N	0
	2	N	N	N	N	
	3	N	N	N	N	
	4	N	N	N	N	
II Dosis I 2000 mg/KgBB	1	N	N	N	N	0
	2	N	N	N	N	
	3	N	N	N	N	
	4	N	N	N	N	
III (Dosis 2) 2500 mg/KgBB	1	✓	N	✓	N	0
	2	N	N	N	N	
	3	N	N	N	N	
	4	N	N	N	N	
IV (Dosis 3) 3200 mg/KgBB	1	N	N	N	N	1
	2	✓	N	✓	N	
	3	N	✓	N	✓	
	4	N	N	N	N	

Keterangan : ✓ = terjadi perubahan

N = normal

Hasil uji toksisitas akut pada kelompok I atau kelompok control normal adalah mencit beraktivitas seperti biasanya (normal). Pada kelompok II dengan dosis 2000 mg/ kgBB, seluruh mencit pada pengamatan 30 menit, 4 jam dan 24 jam beraktivitas seperti biasanya dan tidak ada yang mengalami gejala toksik. Pada kelompok III dosis 2500 mg/kgBB pada pengamatan 30 menit, 4 jam dan 24 jam mencit nomor 1 terjadi penurunan aktivitas menjadi pasif dan terlihat diam, sedangkan mencit yang lain pada kelompok yang sama tidak mengalami gejala toksik dan beraktivitas seperti biasanya dan tidak ada hewan uji yang mati. Pada golongan IV dosis 3200 mg/kgBB mencit nomor 2 pada pengamatan 30 menit, 4 jam dan 24 jam terjadi penurunan aktivitas menjadi pasif dan pada mencit nomor 3 mengalami diare atau feses menjadi lembek dan terdapat kematian 1 hewan uji.

## KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa nilai LD<sub>50</sub> (*Lethal dose 50*) fraksi n-heksana koro benguk adalah 3.688,077 mg/kg BB termasuk kategori toksik sedang. Fraksi n-heksana koro benguk termasuk toksik sedang dengan gejala yang timbul pada mencit yaitu mencit menjadi pasif dan mengalami diare.

## DAFTAR PUSTAKA

Hasanah, M., Maharani, B., Munarsih, E., Tinggi, S., Farmasi, I., Pertiwi, B., dan Selatan, S., 2017, *Daya Antioksidan Ekstrak Dan Fraksi Daun Kopi Robusta ( Coffea robusta ) Terhadap Antioxidant Of Extract And Fraction Coffea robusta Leaves With Diphenylpicrylhydrazyl (Dpph) Method 4*.

Khosideh., 2017, Uji Aktivitas Antikanker Ekstrak Dan Fraksi Biji Koro Benguk (*Mucuna pruriens* (L) DC), *Var pruriens Terhadap HeLa*

CELL LINE Kanker Serviks, *Skripsi*, Fakultas Sains Dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang, UIN Maulana Malik Ibrahim Malang.

Lu, F.C., 1995, *Toksikologi dasar : asas, organ sasaran, dan penilaian resiko*, (edisi 2), Penerjemah: E. Nugraha. Jakarta: UI press.

Padmasari, P, D., Astuti, K, W., dan Warditiani, N, K., 2013, Skrining fitokimia ekstrak etanol 70% rimpang bangle (*Zingiber purpureum Roxb.*), *Jurnal Farmasi Udayana*, 2(4), 279764.

Patria Willigis Danu dan Soegihardjo C.J., 2013, Uji Aktivitas Antioksidan Menggunakan Radikal 1,1-Difenil-2 Pikrilhidrazil (DPPH) dan Penetapan Kandungan Fenolik Total Fraksi Etil Asetat Ekstrak Etanolik Daun Benalu (*Dendrophthoe pentandra* L. Miq.) Yang Tumbuh Di Pohon Kepel (*Stelechocarpus burahol*), *Jurnal Farmasi Sains dan Komunitas*, 10(1), 51–60.

Retnaningsih, C., Setiawan, A., dan Sumardi., 2011, Potensi Antiplatelet Kacang Koro (*Mucuna pruriens* L), Dari Fraksi Heksan Dibandingkan Dengan Aspirin Pada Tikus Hiperkolesterolemia, *Seri Kajian Ilmiah*, 14(1), 80–88.

Syukur, C dan Hernani., 2003, *Budidaya Tanaman Obat Komersia*, Jakarta : PT, Penebar Swadaya.