

Toksisitas Akut Koro Benguk (*Mucuna Pruriens L.*) Pada Mencit Putih Jantan

Linda Nur Febriani¹, Eka Wisnu Kusuma^{2*}

¹Prodi D3 Farmasi, Sekolah Ilmu Kesehatan Nasional, Indonesia

²Prodi S1 Farmasi, Sekolah Ilmu Kesehatan Nasional, Indonesia

*Email : kusuma.3ka@gmail.com

ABSTRAK

Koro benguk merupakan tanaman pangan yang berpotensi membantu pengobatan. Koro benguk mempunyai aktivitas dapat meningkatkan antioksidan dalam tubuh, sebagai antidiabetes dan antikanker. Data ilmiah mengenai tingkat keamanannya belum banyak ditemukan, salah satunya dengan uji toksisitas akut. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui nilai LD₅₀ dan gejala toksik ekstrak etanol koro benguk yang diberikan pada mencit putih jantan dengan uji toksisitas akut. Metode penelitian ini hewan uji dibagi dalam 4 kelompok perlakuan, kelompok I diberi CMC Na 0,5%, kelompok II, III, dan IV diberi ekstrak etanol koro benguk dosis 2000 mg/kgBB, 2500 mg/KgBB dan 3200 mg/KgBB secara peroral. Pengamatan dilakukan secara intensif 30 menit pertama, 4 jam, dan dilanjutkan 1 hari setelah uji dengan melihat jumlah hewan percobaan yang mati dan gejala toksik yang tampak seperti perubahan berat badan, perubahan warna bulu dan kulit, perubahan tingkah laku, tremor, salivasi, dan feses. Hasil skrining fitokimia ekstrak etanol koro benguk positif mengandung alkaloid, flavonoid, tannin, dan triterpenoid. Dari hasil penelitian menunjukkan bahwa pada dosis 2000, 2500, dan 3200 mg/KgBB ekstrak etanol koro benguk (*Mucuna pruriens L.*) menimbulkan efek toksik pada hewan uji dengan gejala toksik berupa tremor, pasif, feses berwarna kekuningan dan lembek, sehingga ekstrak etanol koro benguk memiliki potensi menyebabkan toksisitas akut terhadap mencit jantan.

Kata Kunci : Gejala Toksik, Koro Benguk, Toksisitas Akut, LD50

ABSTRACT

Koro Benguk is a food plant that has the potential to help with treatment. Koro Benguk has activity to increase antioxidant, antidiabetic and anticancer activity. Scientific data regarding the level of safety has not been found, one of which is the acute toxicity test. The purpose of this study was to determine the LD₅₀ value and toxic symptoms of koro benguk ethanol extract given to male white mice by acute toxicity test. In this research method, the test animals were divided into 4 treatment groups, group I was given CMC Na 0.5%, groups II, III, and IV were given Koro Benguk ethanol extract at doses of 2000 mg/kg, 2,500 mg/Kg, and 3,200 mg/Kg, orally. Observations were carried out intensively for the first 30 minutes, 4 hours, and continued 1 day after the test by looking at the number of experimental animals that died and toxic symptoms such as changes in body weight, changes in coat and skin color, changes in behavior, tremors, salivation, and feces. The results of phytochemical screening of koro benguk ethanol extract were positive for containing alkaloids, flavonoids, tannins, and triterpenoids. The results showed that at doses of 2000, 2500, and 3200 mg/KgBW ethanol extract of koro benguk (*Mucuna pruriens L.*) caused a toxic effect in test animals with toxic symptoms in the form of tremor, passivity, yellowish and soft stools, so that the ethanol extract of koro benguk has the potential to cause acute toxicity to male white mice.

Keywords : Acute Toxicity, Koro Benguk, Toxic Symptoms, LD50

PENDAHULUAN

Negara Indonesia termasuk salah satu negara yang memiliki kekayaan alam terbesar di dunia dengan beragam flora dan fauna. Banyak tanaman obat yang dapat ditemukan di antara beragam flora tersebut. Tanaman koro benguk (*Mucuna pruriens* L.) berasal dari keluarga *Fabaceae* yang memiliki potensi untuk dimanfaatkan sebagai obat (Sulastri, 2019).

Koro benguk (*Mucuna pruriens* L.) dapat ditemukan di hampir setiap lingkungan tropis, seperti India, Thailand, Afrika hingga Amerika Tengah. Tanaman koro benguk ini sering dimanfaatkan di daerah tersebut untuk pengobatan asam urat, diabetes, antibakteri, dan antikanker (Mulyani, dkk, 2016).

Hasil penapisan fitokimia simplisia koro benguk menunjukkan kandungan kumarin, metionin, tirosin, alkaloid, flavonoid dan alkilamin yang menunjukkan bahwa simplisia koro benguk memiliki efek dapat meningkatkan antioksidan (Mulyani, dkk, 2016), antikolesterol dan antidiabetes (Anggraini dan Kusuma, 2020).

Berdasarkan observasi yang dilakukan oleh Gavishiddappa A. Hadimani et al (2015) menunjukkan bahwa ekstrak metanol koro benguk (*Mucuna pruriens* L.) memiliki kandungan steroid, alkaloid, tanin, karbohidrat, asam amino, resin dan pati. Dalam studi toksisitas akut, ekstrak metanol koro benguk tidak menyebabkan kematian hewan mencit pada dosis 2000 mg/kgBB (Gavishiddappa A. Hadimani et al, 2015). Pada penelitian ini peneliti ingin mengetahui pada dosis berapa ekstrak etanol koro benguk dapat

menyebabkan efek toksik pada hewan uji sehingga mendorong peneliti untuk melakukan penelitian lanjutan pada koro benguk (*Mucuna pruriens* L.) untuk mengetahui potensi toksisitas akut koro benguk (*Mucuna pruriens* L.) pada mencit putih jantan yang diukur dengan nilai LD₅₀, berdasarkan penelitian sebelumnya.

Uji toksisitas dilakukan untuk mencari efek toksik atau sinyal bahwa penggunaan tanaman sebagai obat telah mencapai batasnya. Uji ketoksikan akut termasuk uji praklinik. Uji ketoksikan akut ini digunakan untuk mengetahui nilai lethal atau nilai LD₅₀ suatu zat dapat ditentukan dalam waktu 1 x 24 jam setelah pemberian dosis tunggal (Mayang, dkk, 2021).

METODE PENELITIAN

Instrumen dan Bahan

Instrumen yang digunakan adalah cawan porselein, tabung reaksi (Iwaki), batang pengaduk (Pyrex), timbangan digital *rotary evaporator* (IKA), *waterbath* (Memmert), blender (Miyoko), rak tabung reaksi, bejana, sputi oral, gelas ukur (Iwaki), ayakan, beker glass (Iwaki), pipet tetes, kandang mencit.

Bahan yang digunakan adalah etanol 70%, biji koro benguk (*Mucuna pruriens* L.), etanol 70%, aquades, mencit putih jantan, makanan standar mencit. Bahan yang digunakan untuk skrining fitokimia adalah HCl, serbuk logam Mg, reagen Dragendorff, ragen Liebermann-Burchard, asam sulfat (H₂SO₄), FeCl₃.

Pembuatan Ekstrak

Sebanyak 1 kg koro benguk yang diperoleh dari pedagang di Kecamatan Sumberlawang dilakukan sortasi basah, pencucian, perajangan, pengeringan dengan sinar matahari selama 4 hari ditutupi kain hitam selanjutnya dilakukan penyortiran untuk memisahkan sampel dari bahan asing. Setelah melewati tahap penyortiran sampel kering koro benguk dihaluskan dengan blender kemudian diayak dengan ayakan No. 40 untuk diperoleh ukuran serbuk yang seragam, selanjutnya disimpan di tempat kering, tidak lembab dan wadah tertutup rapat. Ekstrak koro benguk dibuat dengan proses maserasi. 500 gram serbuk koro benguk diekstraksi selama 3 hari dalam etanol 70% pada suhu kamar. Timbang serbuk koro benguk 500 gram, masukkan dalam bejana dan tambahkan 3750 ml (1: 7,5) pelarut etanol 70% kemudian tutup rapat dan diamkan dalam waktu tiga hari di ruangan yang terlindung dari cahaya matahari sambil dilakukan pengadukan sesekali. Kemudian ekstrak cair disaring dengan kertas saring. Residu dilakukan perendaman kembali (remaserasi) dalam 1250 ml (1: 2,5) etanol 70% selama 1 hari. Setelah itu, maserat disaring dengan kertas saring kemudian dipindahkan ke wadah tertutup. Ekstrak yang dihasilkan diuapkan dalam *rotary evaporator* pada suhu 50°C dan dipekatkan dalam *waterbath* suhu 50°C untuk menghasilkan ekstrak kental.

Skrining Fitokimia

1. Alkaloid

1 ml ekstrak etanol koro benguk dimasukkan ke dalam tabung reaksi, tambahkan 2-3 tetes reagen

Dreagendroff. Jika positif alkaloid maka akan membentuk warna orange atau endapan coklat kemerahan (Khosideh, 2017).

2. Tanin

1 ml ekstrak etanol koro benguk masukkan dalam tabung reaksi dan tambahkan 3-4 tetes larutan FeCl₃. Terbentuknya warna biru tua atau hitam kehijauan menunjukkan positif tannin sesuai dengan modifikasi yang terjadi.

3. Flavonoid

1 ml ekstrak etanol koro benguk masukkan dalam tabung reaksi. Tambahkan 2 mg serbuk Magnesium bersama dengan 2 tetes HCl pekat. Kocok sampel dan amati perubahannya. Positif flavonoid jika terbentuk warna kuning, merah atau jingga pada sampel.

4. Saponin

1 mL ekstrak etanol koro benguk dimasukkan dalam tabung reaksi tambahkan 1 mL air, dan kocok kuat-kuat ± 10 detik. Jika menghasilkan buih tambahkan 2 tetes HCl 1 N, buih tidak hilang hingga 10 menit dengan ketinggian 1-3 cm menunjukkan adanya saponin (Khosideh, 2017).

5. Steroid

Sampel ekstrak etanol koro benguk diambil 1 mL dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi. 2 tetes larutan CHCl₃ di tambahkan ke sampel. Ditambahkan 3 tetes reagen Lieberman Burchard. Adanya steroid ditentukan dengan munculnya warna hijau biru pada sampel.

6. Triterpenoid

1 ml ekstrak etanol koro benguk masukkan dalam tabung reaksi. Tambahkan 2 tetes larutan CHCl₃ dan 2 tetes larutan asam asetat anhidrat serta 3 tetes reagen H₂SO₄ P. Reaksi yang positif ditemukan jika endapan coklat atau endapan ungu/violet muncul dalam sampel (Harborne, 1987).

Uji Toksisitas Akut

Sebanyak 16 ekor mencit putih (*Mus musculus*) jantan yang digunakan sebagai hewan percobaan dengan persyaratan berat badan 20 - 30 gram dan umur 2 - 3 bulan. Mencit diadaptasikan selama 7 hari sebelum uji toksisitas akut agar dapat beradaptasi dengan lingkungan barunya, dan dipuaskan selama 1 hari sebelum pengujian namun tetap diberi air. Tujuan puasa adalah untuk memastikan bahwa asupan makanan tidak mempengaruhi proses pengujian.

Dosis ekstrak etanol koro benguk yang digunakan dalam uji toksisitas akut adalah 2000 mg/kgBB, 2500 mg/kgBB 3200 mg/kgBB. Pengambilan dosis tersebut mengacu pada penelitian yang dilakukan oleh Gavishiddappa A. Hadimani et al (2015) yang mengikuti metode dosis tetap CPCSEA, OECD (Organization for Economic Cooperation and Development), dan pedoman No. 420. Dalam studi toksisitas akut, ekstrak metanol koro benguk tidak menyebabkan kematian mencit pada dosis 2000 mg/kg. Berdasarkan hal tersebut, maka dosis yang digunakan pada penelitian ini dimulai dari dosis 2000 mg/kgBB dinaikkan dengan tingkatan dosis pada setiap kelompok perlakuan yaitu 2000, 2500, dan 3200

mg/kgBB. Mencit putih jantan diberikan dosis secara oral.

Hewan uji menggunakan 16 ekor mencit dibagi menjadi 4 perlakuan, masing-masing perlakuan terdiri dari 4 ekor mencit. Setiap kelompok diberi perlakuan sebagai berikut :

1. Kelompok I sebagai kelompok normal diberi CMC Na 0,5%
2. Kelompok II sebagai dosis I diberi ekstrak etanol koro benguk 2000 mg/kgBB
3. Kelompok IIIP sebagai dosis II diberi ekstrak etanol koro benguk 2500 mg/kgBB
4. Kelompok III sebagai dosis III diberi ekstrak etanol koro benguk 3200 mg/kgBB

Nilai LD₅₀ dihitung dengan menghitung jumlah hewan percobaan yang mati setelah 24 jam pemberian ekstrak sebagai dosis tunggal. Dilakukan pengamatan gejala toksisitas yang ditimbulkan setelah pemberian ekstrak yang meliputi perubahan tingkah laku, perubahan warna kulit dan bulu, salivasi, feses, tremor, dan berat badan. Waktu pengamatan adalah 30 menit pertama setelah pemberian ekstrak dilanjutkan pengamatan 4 jam setelah perlakuan, dan dilanjutkan pengamatan setelah 1 hari diberi perlakuan.

Analisis Data

Data yang diperoleh berupa gejala toksisitas hewan uji dan jumlah kematian yang kemudian digunakan untuk menghitung nilai LD₅₀ dan dianalisis untuk ditentukan kategori toksisitas akut dari sampel ekstrak etanol koro benguk.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Preparasi Sampel

Metode ekstraksi yang digunakan adalah maserasi karena peralatannya lebih sederhana, lebih murah, tidak memerlukan peralatan khusus, memiliki waktu kontak yang lama antara sampel dan pelarut, serta dapat mencegah kerusakan komponen senyawa yang sensitive terhadap panas. (Voight, 1995).

Serbuk simplisia dimaserasi dengan cara merendamnya dalam pelarut yang sesuai. Pelarut akan melewati dinding sel dan masuk ke dalam rongga sel yang berisi zat aktif, karena adanya perbedaan konsentrasi antara bahan aktif di dalam dan diluar sel, maka zat aktif akan larut dan larutan di dalam sel akan terpaksa keluar. Sementara tujuan dari remaserasi adalah untuk mendapatkan zat aktif dalam jumlah yang besar dan dapat menarik zat aktif yang masih tertinggal pada maserasi yang pertama, karena penggunaan pelarut yang baru (Ningsih dkk, 2020).

Pelarut yang digunakan dalam metode ekstraksi ini adalah etanol 70%. Pelarut etanol dipilih karena merupakan pelarut polar yang penggunaannya cenderung universal, lebih selektif, netral, memiliki daya serap yang baik, dapat bercampur dengan air, dan menarik molekul polar, sehingga memungkinkan untuk menembus membran sel, memasuki sel, Fenolik, flavanoid, alkaloid, terpenoid, dan steroid merupakan contoh senyawa polar yang dapat larut dalam etanol 70%. (Anggraini dan Kusuma, 2020).

Tujuan ekstrak diuapkan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 50°C untuk menghilangkan pelarut etanol agar benar benar hilang

pada suhu yang tidak terlalu tinggi, sehingga tidak merusak ekstrak dan sisa air yang masih ada dipekatkan dengan *waterbath* pada suhu 50°C agar diperoleh ekstrak kental.

Berdasarkan pengamatan organoleptis, ekstrak yang diperoleh memiliki karakteristik sebagai berikut meliputi bentuk berupa ekstrak kental, warna coklat kehitaman dan bau khas koro benguk. Rendemen ekstrak etanol koro benguk (*Mucuna pruriens* L) yaitu 14,01 %.

Tabel 1. Hasil persentase rendemen ekstrak

Sampel	Berat Simplisia Kering	Berat Ekstrak Kering	% Rendemen
Koro benguk	500 gram	70,05 gram	14,01%

Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia adalah teknik yang menggunakan reagen warna dalam tabung reaksi untuk mendeteksi golongan senyawa aktif dalam ekstrak. Tujuan dari skrining fitokimia adalah untuk melihat apakah suatu spesies tanaman memiliki potensi untuk dimanfaatkan (Harborne, 1987).

Tabel 2. Hasil skrining fitokimia

Senyawa	Hasil Uji	Ket
Alkaloid	Endapan coklat kemerahan	+
Tanin	Hitam Kehijauan	+

Flavonoid	Kuning Jingga	+
Saponin	Terbentuk busa	+
Steroid	Merah kehitaman	-
Triterpeno id	Cincin kecoklatan	+

Ket : (+) : Positif (-) : Negatif

Alkaloid, tannin, flavonoid, saponin, dan triterpenoid termasuk metabolit sekunder koro benguk, menurut tabel 2.

Uji Toksisitas Akut

Hasil uji ketoksikan akut pada kelompok I setelah diberikan suspensi CMC Na 0,5% sebagai kelompok kontrol, menunjukkan bahwa tidak ada hewan uji yang mati dan mencit beraktifitas seperti biasanya tidak ada tanda-tanda gejala toksik. Kelompok kontrol ini digunakan sebagai pembanding pada kelompok perlakuan.

Hasil uji toksitas pada kelompok II menunjukkan bahwa setelah 30 menit pemberian ekstrak etanol koro benguk (*Mucuna pruriens*) tidak ada kematian dan mencit aktif seperti biasa dan tidak ada gejala toksik. Setelah 4 jam perlakuan mencit 1,2,3 menjadi tremor, yang ditandai dengan otot berkedut dan gerakan kulit yang cepat.

Pada kelompok III diberikan dosis 2500 mg/KgBB tidak ada mencit yang mati, namun dilakukan pengamatan klinis pada mencit 1, 2, 3, 4 menunjukkan penurunan aktifitas setelah 30 menit diberikan ekstrak etanol koro benguk (*Mucuna*

pruriens), setelah 4 jam perlakuan pada mencit 1 & 2 masih beraktivitas seperti biasa dan tidak ada gejala toksik, sedangkan pada mencit 3 mengalami tremor yang ditandai dengan otot berkedut dan gerakan kulit yang cepat. Mencit 4 terjadi gejala toksik feses menjadi berwarna kekuningan. Pada kelompok IV diberikan dosis 3200 mg/KgBB tidak ada mencit yang mati, namun dilakukan pengamatan klinis yaitu pada mencit 1, 2, 3, 4 setelah 30 menit diberikan ekstrak etanol koro benguk (*Mucuna pruriens*) terdapat penurunan aktivitas menjadi pasif. Pada hewan uji, kepasifan adalah indikator umum toksitas sebagai respons terhadap berbagai rangsangan, yang seluruhnya dapat dikaitkan dengan sistem saraf pusat dan fungsi somatomotor (Fithria, 2018). Setelah 4 jam perlakuan mencit 1 terjadi gejala toksik feses menjadi agak lembek, mencit 2 masih beraktifitas seperti biasa dan tidak ada gejala toksik yang muncul, mencit 3 & 4 terjadi penurunan aktifitas menjadi pasif.

Gejala toksik berupa feses lembek dan berwarna agak kekuningan terjadi setelah mencit diberi ekstrak etanol koro benguk. Gejala toksik tersebut timbul karena adanya aktivitas saraf parasimpatis. Saraf parasimpatis dapat merangsang kerja pencernaan, seperti peristaltik usus dan pelepasan getah lambung, bila dirangsang (Jumain, 2018).

Dari hasil uji toksitas akut ekstrak etanol koro benguk tidak ada hewan uji yang mati sehingga tidak dapat dilakukan perhitungan nilai LD50 untuk ditentukan kategori toksiknya. Sedangkan dari pengamatan gejala toksik hewan uji yang diberi perlakuan terdapat gejala toksik yang meliputi perubahan

tingkah laku seperti pasif, lemah, tidur, perubahan bentuk feses menjadi lebih lembek dan berwarna kekuningan, serta terjadi tremor pada hewan uji. Efek toksik tersebut disebabkan karena dosis yang diberikan pada hewan uji terlalu tinggi sehingga zat aktif yang seharusnya dapat mengobati penyakit tertentu ketika diberikan dalam jumlah yang besar akan menyebabkan toksik.

Catatan : table dan gambar ““

KESIMPULAN

Berdasarkan data penelitian tersebut koro benguk (*Mucuna pruriens* L.) pada dosis 2000, 2500, dan 3200 mg/KgBB menimbulkan efek toksik pada hewan uji dengan gejala toksik berupa tremor, pasif, feses berwarna kekuningan dan lembek, sehingga ekstrak etanol koro benguk memiliki potensi menyebabkan toksitas akut pada mencit putih jantan, tetapi tidak menyebabkan kematian pada mencit.

SARAN

Perlu adanya penelitian selanjutnya untuk melakukan uji toksitas akut dengan dosis yang lebih tinggi pada tingkat dosis tertentu.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Nasional yang telah memberikan fasilitas dalam penelitian.

DAFTAR PUSTAKA

- Anggraini, D.I., dan Kusuma, E.W. 2020. Uji Cemaran Pada Ekstrak Etanol Tempe Koro Benguk (*Mucuna Pruriens* L.) Sebagai Obat Antidiabetes Terstandar. *Jurnal Ilmiah Cendekia Eksakta*, 5(1):1-11
- Fithria, R.F., Wulandari, R.L., Hidayati, D.N., Rejeki, L. 2018. Toksisitas Akut Infusa Kulit Ari Kacang Tanah (*Arachis Hypogaea* L.) Pada Mencit Balb/C. *Jurnal Ilmu Farmasi dan Farmasi Klinik (JIFFK)*, 15(2): 62-70
- Gavishiddappa A. Hadimani et al. 2015. Evaluation of Acute Oral Toxicity and Phytoconstituents of Methanolic Extract of *Mucuna pruriens*. *Journal of Pharmaceutical sciences and Research*. 7(1): 33-36
- Harborne, J.B. 1987. Metode Fitokimia. Edisi Kedua. Penerbit ITB. Bandung.
- Jumain, J., Syahruni, S., & Farid, F. 2018. Uji Toksisitas Akut Dan LD50 Ekstrak Etanol Daun Kiruyuh (*Eupatorium odoratum* Linn) Pada Mencit (*Mus musculus*). *Media Farmasi*. 14(1):28-34
- Khosideh. 2017. Uji Aktivitas Antikanker Ekstrak Dan Fraksi Koro Benguk (*Mucuna pruriens* L.) var *pruriens* terhadap Hela Cell Line Kanker Serviks. *Skripsi*. Fakultas Da Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang
- Mayang, A., Abdul, A., Ariastuti, R. 2021. Uji Toksisitas Akut Infusa Daun Sirsak (*Annona Muricata* L.) Pada Hewan Uji Mencit. *Jurnal Farmasetis*. 10 (1): 37–44
- Mulyani, L., Kartadarma, E., dan Fitrianingsih, S.P. (2016). Manfaat dan Kandungan Kacang Kara Benguk

(*Mucuna pruriens* L.) sebagai Obat Herbal. *Prosiding Farmasi.* 2 (2): 351-357

Ningsih, dkk. 2020. Pengaruh Perbedaan Metode Ekstraksi Rimpang Kunyit (*Curcuma domestica*) Terhadap Rendemen dan Skrining Fitokimia. *Journal of Pharmaceutical Care Anwar Medika Artikel.* 2(2):96-104

OECD. 2000. OECD Series on Testing and assessment No.24. Guidance Document on Acute Oral Toxicity Testing. Paris: OECD Environment Directorate, Environment, Health and Safety Division.

Voight, R. 1995. *Buku Pelajaran Teknologi Farmasi,Diterjemahankan oleh Soendani N.S.* UGM Press. Yogyakarta.