

## KEAMANAN PEMBERIAN BERULANG EKSTRAK KANGKUNG DARAT (*Ipomoea reptans*, Poir) TERSTANDAR TERHADAP FUNGSI GINJAL DAN HEPAR MENCIT BETINA

Farida Hayati<sup>1\*</sup>, Retno Murwanti<sup>2</sup>, Ginna Zabrina<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Prodi Farmasi FMIPA Universitas Islam Indonesia

<sup>2</sup> Fakultas Farmasi Universitas Gadjah Mada

\*e-mail: farida\_hayati@yahoo.com

### ABSTRAK

Kangkung darat terbukti memiliki aktifitas antihyperglicemia pada mencit betina galur swiss yang diinduksi streptozotocin. Penelitian ini dilakukan untuk mendapatkan kajian keamanan pemberian berulang ekstrak kangkung darat terstandar terhadap fungsi ginjal dan hepar pada mencit betina. Dua puluh hewan uji dibagi ke dalam 4 kelompok, yaitu kelompok kontrol (akuades 10 ml/ kg), dosis I (ekstrak etanolik kangkung darat 480 mg/ kg), dosis II (ekstrak etanolik kangkung darat 759 mg/ kg), dan dosis III (ekstrak etanolik kangkung darat 1200 mg/ kg). Ekstrak etanolik kangkung darat diberikan 1 kali sehari secara p.o. selama 14 hari. Pengamatan gejala toksik dilakukan selama 3 jam setelah pemberian senyawa uji. Kelompok dosis 1200 mg/ kg mengalami efek sedasi, konstipasi, dan feses berwarna hitam selama pemberian ekstrak etanolik kangkung darat terstandar, sedangkan kelompok lainnya tidak mengalami gejala toksik. Data berat badan, pemeriksaan ALT, dan pemeriksaan AST dianalisis secara statistik. Berat badan rata-rata hewan uji kelompok dosis 759 mg/ kg mengalami penurunan yang paling banyak dibandingkan kelompok lainnya dan berbeda signifikan dengan kelompok kontrol dari hasil analisis statistik. Kadar AST dan ALT mengalami peningkatan setelah pemberian berulang ekstrak etanolik kangkung darat selama 14 hari, dari hasil analisis statistik kadar ALT dan AST kelompok dosis 759 mg/ kg dan dosis 1200 mg/ kg berbeda signifikan dengan kelompok kontrol ( $p < 0,05$ ). Hasil histopatologi organ ginjal dan hepar hewan uji setelah pemberian berulang ekstrak etanolik kangkung darat terstandar selama 14 hari menunjukkan tidak adanya perubahan yang membahayakan pada organ.

**Kata kunci:** Kajian keamanan pemberian berulang, ekstrak etanolik kangkung darat, fungsi ginjal, fungsi hepar

### ABSTRACT

*Ipomoea reptans* have antihyperglycemia activity in Swiss male mice streptozotocin-induced. The aim of this study is obtain to review of safety multiple dose administration *Ipomoea reptans* in renal and liver function DDY female mice. Twenty DDY mice were divided into 4 groups: control group (aquadest 10 ml/ kg), first dose group (*Ipomoea reptans* ethanolic extract 480 mg/ kg), second dose group (*Ipomoea reptans* ethanolic extract 759 mg/ kg), and third dose group (*Ipomoea reptans* ethanolic extract 1200 mg/ kg). *Ipomoea reptans* ethanolic extract was given once daily dose for 14 days. Toxic symptoms were observed during 3 hours after administration of *Ipomoea reptans* ethanolic extract. Group of dose 1200 mg/ kg showed he effect of sedation, constipation, and dark tools during administration of *Ipomoea reptans* ethanolic extract, while the other group did not have any toxic symptoms. Average of body weight mice group of dose 759 mg/ kg has significant decrease. ALT and AST level increased after multiple dose administration of *ipomoea reptans* ethanolic extract for 14 days. Result of renal and hepatic histopathology after multiple dose administration of *ipomoea reptans* ethanolic extract for 14 days showed no harmful changes in the organs.

**Key words:** safety study of multiple dose administration, standardized *Ipomoea reptans* ethanolic extract, renal and hepatic function

## PENDAHULUAN

Diabetes Mellitus (DM) adalah penyakit dengan tingkat kejadian yang masih tinggi di Indonesia, studi epidemiologi memperkirakan bahwa pada tahun 2030 prevalensi DM di Indonesia mencapai 21,3 juta orang. Hasil Riset Kesehatan Dasar (Riskesdas) tahun 2007 menunjukkan bahwa proporsi penyebab kematian akibat DM pada kelompok usia 45-54 tahun di daerah perkotaan menduduki ranking ke-2 yaitu 14,7%, dan di daerah pedesaan menduduki ranking ke-6 yaitu 5,8%. (Balitbangkes, 2008). Obat tradisional merupakan alternatif pengobatan hiperglikemia yang dipilih oleh masyarakat. Data WHO menyebutkan bahwa 80% populasi di Afrika dan Asia pada tataran pelayanan kesehatan primer masih bergantung pada penggunaan obat tradisional (Sahoo *et al.*, 2010). Penggunaan obat herbal yang tinggi di negara berkembang bukan sekedar karena faktor harga yang lebih terjangkau, tapi juga karena faktor budaya, dan minimnya efek samping yang ditimbulkan (Pal and Shukla, 2003).

Kangkung adalah salah satu tanaman yang sering dimanfaatkan oleh masyarakat sebagai makanan dan secara empiris banyak digunakan sebagai obat alternatif untuk terapi DM. Beberapa penelitian ilmiah telah dilakukan untuk menguji khasiat kangkung terhadap DM. Malalavidhane *et al.* melaporkan bahwa ekstrak kangkung air (*Ipomea aquatica*) dari Sri Lanka memiliki aktivitas antihiperglikemia dengan efektifitas yang sama dengan tolbutamide dalam menurunkan kadar gula darah pada tikus wistar (Malalavidhane *et al.*, 2000; Malalavidhane *et al.*, 2001). Selanjutnya, peneliti yang sama juga

melaporkan aktivitas antihiperglikemia ekstrak kangkung air terhadap tikus Wistar yang diinduksi oleh streptozotocin (Malalavidhane *et al.*, 2003). Penelitian yang dilakukan oleh Hayati *et al.*, menunjukkan bahwa kangkung darat (*Ipomea reptans* Poir) dari Indonesia mampu menurunkan kadar glukosa darah mencit dengan dosis 2,23g/kgBB, 4,464g/kgBB, dan 8,928 g/kgBB (Hayati *et al.*, 2010), dan hasil uji toksisitas akut menunjukkan keamanan ekstrak kangkung darat pada mencit (Hayati *et al.*, 2012). Berdasarkan aplikasi penggunaannya, perlu dikaji keamanan kangkung darat pemberian berulang pada hewan coba.

## METODE PENELITIAN

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain neraca analitik (METTLER TOLEDO), alat-alat gelas, timbangan tikus (OHAUSS), seperangkat alat gelas (labu takar, gelas beker, gelas ukur, pipet), seperangkat alat bedah (gunting bedah, pinset), dan seperangkat alat untuk pemeriksaan histopatologi organ. Bahan penelitian ini adalah subjek uji mencit putih jantan galur DDY dengan berat badan 20-30gram, berjumlah 12 ekor mencit yang diberi pakan tikus 1 kali sehari dan minum ad-libitum. Hewan uji diperoleh dari Laboratorium Penelitian dan Pengujian Terpadu UGM, Yogyakarta. Bahan-bahan lain yang dipergunakan dalam penelitian ini adalah ekstrak etanolik kangkung darat (*Ipomoea reptans*, Poir) terstandar. Bahan lain yang digunakan yaitu formalin 10% untuk fiksasi organ, akuades, jarum oral, serta bahan lain yang diperlukan untuk pembuatan preparat histopatologi.

Penelitian ini telah mendapatkan pengakuan kelayakan etika penelitian (*ethical clearance*) dari Komisi Etika Penelitian Bidang Kedokteran dan Kesehatan, Fakultas kedokteran UGM. Hewan coba terlebih dahulu diadaptasikan selama seminggu di laboratorium sebelum diberi perlakuan.

#### **Pembuatan ekstrak kangkung darat terstandar**

Bahan penelitian berupa tanaman kangkung darat (*Ipomea reptans* Poir) dikumpulkan, disortasi dan dicuci dengan air mengalir untuk menghilangkan kotoran yang menempel pada daun kangkung darat. Adapun bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah batang dan daunnya saja. Batang dan daun kemudian dikeringkan dilemari pengering dan kemudian dipotong kecil-kecil, dan dihancurkan hingga berbentuk serbuk, dimaserasi berulang dengan 8 liter etanol selama 12 jam pada suhu ruangan. Ekstrak yang didapat di uapkan dengan *rotary evaporator* pada suhu kurang dari 50°C untuk mendapatkan ekstrak pekatnya. Selanjutnya ekstrak pekat disimpan pada suhu 4°C sebelum digunakan.

#### **Pengamatan keamanan pada pemberian berulang**

Rancangan penelitian yang digunakan adalah *posttest only control group design*, dengan pengelompokan hewan coba secara acak lengkap. Variabel bebas dosis ekstrak etanolik kangkung darat, dan variabel tergantung parameter toksisitas. Penelitian menggunakan 20 mencit yang dibagi menjadi 4 kelompok, yaitu kelompok I sebagai kelompok kontrol normal, kelompok

II sebagai kelompok perlakuan I, mencit diberikan sediaan ekstrak kangkung darat terstandar BB secara per oral dosis 480 mg/kg, kelompok III sebagai kelompok perlakuan II, mencit diberikan sediaan ekstrak kangkung terstandar BB secara per oral dosis 759mg/kgBB, kelompok IV sebagai kelompok perlakuan III, mencit diberikan sediaan ekstrak kangkung terstandar BB secara peroral dosis 1200mg/kgBB. Pemberian ekstrak etanolik kangkung darat terstandar dilakukan secara peroral 1 kali sehari selama 14 hari. Pengamatan gejala klinik (aktivitas gerak, kejang, muntah, refleks kornea, refleks badan dan perilaku), diamati selama 3 jam setelah setiap pemberian zat uji. Penimbangan berat badan mencit setiap 5 hari sekali selama masa uji dan dilakukan sebelum pemejanaan zat uji. Pada akhir masa uji, hewan uji pada masing-masing kelompok dikorbankan untuk diambil organnya dan dibuat preparat histologi untuk pemeriksaan histopatologi.

Pengukuran kadar ALT dan AST dilakukan sebelum pemberian dosis berulang ekstrak etanolik kangkung darat terstandar (hari ke-0) dan setelah pemberian dosis berulang ekstrak etanolik kangkung darat terstandar (hari ke-15). Pengukuran kadar ALT dan AST dilakukan di Pusat Studi Pangan dan Gizi Universitas Gadjah Mada. Darah hewan uji diambil melalui mata untuk kemudian diukur kadar ALT dan AST. Pemeriksaan histopatologi dilakukan di Laboratorium Patologi Umum Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Gadjah Mada (FKH UGM). Data hasil pemeriksaan histopatologi dianalisis secara kualitatif, dibandingkan antara kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Pada penelitian digunakan bahan baku ekstrak kangkung darat yang telah terstandarisasi. Hasil uji standarisasi menunjukkan bahwa ekstrak kangkung darat yang digunakan mengandung  $\beta$  karoten sebesar 26,79%, dibuat dengan rendemen 8,21%. Ekstrak memenuhi persyaratan kualitas dan bebas dari cemaran yang dibuktikan melalui pengukuran : kadar air, kadar abu, cemaran mikroba, kapang, khamir, logam berat Pb dan Cd yang nilainya memenuhi kriteria standar (Wibowoet *al.*, 2012).

Hasil pengamatan gejala klinis setiap hari menunjukkan tidak adanya gejala-gejala toksik yang muncul. Kelompok dosis 1200 mg/ kg mengalami efek sedasi pada

pemejanaan hari ke-4 sampai ke-14, yang disebabkan karena adanya kalium dan natrium yang terkandung di dalam kangkung. Hari ke-7 sampai ke-14 feses hewan uji kelompok dosis 1200 mg/ kg berwarna hitam dan agak keras, sedangkan hewan uji kelompok lain tidak, kemungkinan ekstrak etanolik kangkung darat dapat menyebabkan konstipasi pada dosis tertentu dikarenakan kandungan zat besi yang cukup tinggi di dalam kangkung, yang mana zat besi dapat menyebabkan konstipasi (Anggara, 2009).

Purata perubahan berat badan Mencit betina galur DDY perhari selama 14 hari pemberian ekstrak kangkung darat terstandar tersaji pada Tabel I. Secara keseluruhan selama 14 hari berat badan mencit betina meningkat, kecuali pada kelompok pemberian dosis II (759mg/kgBB)

**Tabel 1.** Purata Perubahan Berat Badan Mencit betina galur DDY perhari selama 14 hari pemberian ekstrak kangkung darat terstandar

Mencit ke-	Purata Perubahan Berat Badan Mencit Perhari Selama 15 hari (gram/hari)			
	Kontrol	Dosis I (480mg/kgBB)	Dosis II (759mg/kgBB)	Dosis III (1200mg/kgBB)
1	+ 0,067	+ 0,167	- 0,267	- 0,033
2	+ 0,22	+ 0,1	- 0,38	+ 0,153
3	+ 0,287	+ 0,053	- 0,233	- 0,047
4	+ 0,227	+ 0,1	- 0,367	+ 0,16
5	+ 0,22	+ 0,067	- 0,207	+ 0,113
Rata-rata	+ 0,204	+ 0,097	- 0,291	+ 0,024

Ket: + = peningkatan berat badan; - = penurunan berat badan

Hasil Uji statistik ANOVA yang dilanjutkan dengan Uji Tuckey menunjukkan adanya perbedaan hanya terjadi pada kelompok pemberian dosis II (759 mg/kgBB). Pada kelompok pemberian yang lain tidak terlihat adanya pengaruh ekstrak kangkung darat terhadap berat badan mencit.

Perubahan fungsi hepar secara kuantitatif diukur melalui parameter AST dan ALT mencit. Pengukuran ALT (alanin

aminotransferase) dan AST (aspartat aminotransferase) penting dilakukan untuk menilai fungsi hati, ALT dan AST merupakan enzim yang dihasilkan oleh hati. ALT dan AST akan meningkat ketika terjadi nekrosis sel hati (Jaeschk, 2008). Pengukuran ALT dan AST mencit dilakukan sebelum pemberian ekstrak etanolik kangkung darat terstandar yaitu pada hari ke-0 dan pada akhir penelitian sebelum pembedahan yaitu pada hari ke-15.

**Tabel 2.** Hasil pengukuran kadar AST dan ALT mencit betina galur DDY setelah pemberian ekstrak kangkung darat terstandar

Kelompok	Rata-rata ± SD AST (U/L)		Rata-rata ± SD ALT (U/L)	
	Sebelum perlakuan	Setelah perlakuan	Sebelum perlakuan	Setelah perlakuan
Kontrol	22,50 ± 0,24	21,81 ± 0,36	18,08 ± 0,56	18,38 ± 0,34
Dosis 480mg/kgBB	21,77 ± 0,41	22,52 ± 0,24	17,89 ± 0,29	18,88 ± 0,42
Dosis 759mg/kgBB	22,36 ± 0,24	24,92 ± 0,76	18,09 ± 0,33	22,23 ± 0,57
Dosis 1200mg/kgBB	21,85 ± 0,14	28,91 ± 0,66	17,79 ± 0,84	26,03 ± 0,28

Parameter ALT dan AST tidak mengalami perubahan yang signifikan pada kelompok kontrol dan perlakuan I, namun terjadi perbedaan antara kondisi sebelum dan sesudah perlakuan pada kelompok perlakuan dosis II dan dosis III ( $p < 0,05$ ). Berdasarkan data hasil pemeriksaan kadar ALT dan AST dapat dikatakan bahwa semakin tinggi dosis senyawa uji maka terjadi peningkatan kadar ALT dan AST yang semakin tinggi pula. Hal itu menunjukkan bahwa semakin tinggi dosis ekstrak etanolik kangkung darat yang diberikan maka fungsi hati semakin menurun didasarkan pada peningkatan kadar ALT dan AST. Meskipun kadar ALT dan AST mencit kelompok perlakuan (dosis I, dosis II, dan dosis III) mengalami kenaikan setelah pemberian ekstrak etanolik kangkung darat terstandar selama 14 hari, tetapi kenaikan kadar ALT dan AST masih dalam rentang normal. Kadar normal ALT mencit yaitu  $\leq 35$  U/L dan kadar normal AST mencit yaitu  $\leq 45$  U/L (Esau, *et al.*, 2006).

Pemeriksaan makroskopis organ (tes histopatologi) menunjukkan tidak adanya perbedaan organ ginjal dan hepar mencit pada berbagai dosis perlakuan dibanding terhadap kontrol. Adanya degenerasi vakuoler, peradangan, dan

kongesti pada beberapa bagian organ tidak membahayakan. Degenerasi vakuoler yang berupa penumpukan cairan di dalam sel dapat memicu peradangan. Adanya peradangan menyebabkan peningkatan jumlah eritrosit pada daerah radang, sehingga terjadi akumulasi eritrosit pada pembuluh darah. Akumulasi eritrosit menyebabkan kongesti yang secara mikroskopik terlihat warna merah pada pembuluh darah.

## KESIMPULAN

Selama pemberian ekstrak etanolik kangkung darat terstandar selama 14 hari, hewan uji kelompok kontrol, dosis 480 mg/kg, dan dosis 759 mg/kg tidak mengalami gejala toksik, sedangkan hewan uji kelompok dosis 1200 mg/kg mengalami efek sedasi, konstipasi, dan feses berwarna hitam.

Pemberian berulang ekstrak etanolik kangkung darat selama 14 hari pada mencit betina betina mengakibatkan kadar AST dan ALT hewan uji kelompok dosis 759 mg/kg dan dosis 1200 mg/kg mengalami peningkatan yang signifikan ( $p < 0,05$ ), dan hasil histopatologi organ ginjal dan hepar hewan uji setelah pemberian berulang ekstrak etanolik kangkung darat terstandar

selama 14 hari menunjukkan tidak adanya perubahan yang membahayakan pada organ.

## UCAPAN TERIMAKASIH

Ucapan terima kasih kepada Direktorat Penelitian dan Pengabdian Masyarakat Universitas Islam Indonesia, yang memberikan kepercayaan melalui Hibah Penelitian Terapan pada peneliti untuk menjalankan penelitian ini.

## DAFTAR PUSTAKA

- Anggara, R., 2009, Pengaruh Ekstrak Kangkung Darat (*Ipomoea reptans*, Poir) terhadap Efek Sedasi pada Mencit Balb/c, *Karya Tulis Ilmiah*, Fakultas Kedokteran, Universitas Diponegoro, Semarang
- Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan Departemen Kesehatan Republik Indonesia (Balitbangkes DepKes RI), 2008, *Riset Kesehatan Dasar 2007*, Departemen Kesehatan, Republik Indonesia, Jakarta : Halaman 15-18
- Esau, C., Davis, S., Murray, S. F., Yu, X. X., Pandey, S. K., Pear, M., Watts, L., Booten, S. L., Graham, M., Mckay, R., Subramaniam, A., Propp, S., Lollo, B. A., Freier, S., Bennett, C. F., Bhanot, S., Monia, B. P., 2006, miR-122 Regulation of Lipid Metabolism Revealed by In Vivo Antisense Targeting, *Cell Metabolism*, 3: 89
- Hayati, F; Widyarini, S, Helminawati, 2010, Efek Antihiperlipidemik Infusa Kangkung Darat (*Ipomea reptans* Poir) pada mencit jantan galur Swiss yang diinduksi Streptozotocin, *Jurnal Ilmiah Farmasi*, Vol 7 No1 th. 2010, 13-22
- Hayati, F., Murwanti, R., Ningrum, L. S., 2012, Acute Toxicity Test Of *Ipomoea Reptans*, Poir Ethanollic Extract In DDY Male Mouse, *Proceeding 1<sup>st</sup> International Pharmacy Conference on Research and Practice "Toward Excellent In Natural Products: Preserving Traditions, Embracing Innovations"*, Yogyakarta
- Jaeschk, H., 2008, Toxic Response of the Liver, In Klassen, C. D., Casarett and Doull's *Toxicology the Basic Science of Poisons*, Seventh Edition, The McGraw-Hill Companies, Inc, Washington, 557, 562
- Malalavidhane, T. S., Wickramasinghe, S. M., Jansz, E. R., 2000, Oral Hypoglycemic Activity of *Ipomoea aquatic*, *J. Ethnopharmacol.* 72, 293-298
- Malalavidhane, T. S., Wickramasinghe, S. M., Jansz, E. R., 2001, An Aqueous Extract of The Green Leafy Vegetable *Ipomoea aquatic* is as Effective as The Oral Hypoglycemic Drug Tolbutamide in Reducing The Blood Sugar Levels of Wistar Rats, *Phytother.*, 15, 635-637
- Malalavidhane, T. S., Wickramasinghe, S. M., Perera, M. S., Jansz, E. R., 2003, Oral Hypoglycemic Activity of *Ipomoea aquatic* in Streptozotocin-Induced, Diabetic Wistar Rats and Type II Diabetes, *Phytother.* 17, 1098-1100
- Pal, S. K., Shukla, Y., 2003, Herbal Medicine: Current Status and The future, *Asian Pacific J. Cancer Prev.*, 4, 281-288
- Sahoo, N., Manchikanti, P., Dey, S., 2010, Herbal Drugs: Standards and Regulation, *Fitoterapia*, 81, 462-471
- Wibowo, J.T., Djuwarno E.N., Hayati, F., Prabowo, H., 2012, Standardization of kangkung (*Ipomoea reptans* Poir.) Ethanollic Extract., *proceeding in The 1<sup>st</sup> International Pharmacy Conference on Research and Practice "Toward Excellent In Natural Products: Preserving Traditions, Embracing Innovations"*, 13-14 November 2012, Yogyakarta