

## UJI TOKSISITAS AKUT INFUSA DAUN SIRSAK (*Annona muricata* L.) PADA HEWAN UJI MENCIT

Arinta Mayang, Ahwan Abdul\*, Reni Ariastuti

Fakultas Sains, Teknologi dan Kesehatan, Universitas Sahid Surakarta, Jl. Adi Sucipto No.154, Jajar, Kec.  
Laweyan, Kota Surakarta, Jawa Tengah 57144, Indonesia

\*ahwan@usahidsolo.ac.id

### ABSTRAK

Daun sirsak (*Annona muricata* L.) merupakan famili Annonaceae yang dikenal sebagai tumbuhan obat. Daun sirsak mengandung senyawa alkaloid, tannin, flavonoid, terpenoid yang diduga memiliki potensi sitotoksik. Tujuan dari penelitian ini untuk mengetahui aktivitas sitotoksik akut infusa daun sirsak sehingga infusa daun sirsak aman digunakan. Subyek uji yang digunakan hewan uji mencit galur Swiss Webster umur 2-3 bulan, kisaran berat badan 20-25 gram. Penelitian eksperimental ini menggunakan 4 dosis perlakuan yaitu 5.565 mg/kgBB, 78.623 mg/kgBB, 175.362 mg/kgBB, 386.956 mg/kgBB dan 1 kontrol negatif dengan 5 kali pengulangan. Hewan uji mencit yang digunakan berjumlah 25 ekor dengan masing-masing 5 ekor mencit jantan untuk tiap konsentrasi. Kematian mencit dihitung setelah 24 jam perlakuan. Analisis dilakukan perhitungan nilai LD<sub>50</sub> menggunakan rumus Thompson and Weil diperoleh nilai LD<sub>50</sub> 49,82 mg/kgBB. Hal ini menunjukkan bahwa infusa daun sirsak (*Annona muricata* L.) memiliki potensi sangat toksik terhadap hewan uji mencit, karena nilai LD<sub>50</sub> 5 – 50 mg/kgBB. Kemudian dihitung analisis probit menggunakan Microsoft Excel dan diperoleh nilai probit 4,08 g/100 mL.

Kata kunci: daun Sirsak infusa; mencit; toksisitas

### ACUTE TOXICITY TEST INFUSE LEAVES OF THE SOURSOP (*ANNONA MURICATA* L.) ANIMAL TEST MICE

#### ABSTRACT

*Soursop leaf (Annona muricata L.) is a member of the Annonaceae family which is known as a medicinal plant. Soursop leaves contain alkaloid compounds, tannins, flavonoids, terpenoids which are thought to have cytotoxic potential. The purpose of this study was to determine the acute cytotoxic activity of soursop leaf infusion so that soursop leaf infusion is safe to use. The test subjects used were Swiss Webster mice, 2-3 months old, with a body weight range of 20-25 grams. This experimental study used 4 treatment doses, namely 5.565 mg/kgBW, 78.623 mg/kgBW, 175.362 mg/kgBW, 386.956 mg/kgBW and 1 negative control with 5 repetitions. The test animals used were 25 mice with 5 male mice each for each concentration. Mice mortality was calculated after 24 hours of treatment. The analysis was performed to calculate the LD50 value using the Thompson and Weil formula, the LD50 value was 49.82 mg / kgBW. This shows that soursop leaf infusion (Annona muricata L.) has the potential to be very toxic to mice, because the LD50 value is 5-50 mg/kgBW. Then calculated probit analysis using Microsoft Excel and obtained probit value of 4.08 g/100 mL*

*Keywords: infusion; mice; toxicity; soursop leaf*

#### PENDAHULUAN

Tanaman obat bahan alam saat ini semakin banyak dimanfaatkan sebagai obat herbal. Bahan alam yang memiliki khasiat sebagai obat herbal atau obat tradisional diantaranya sirsak (*Annona muricata* L.) (Syahida, Maskat, Suri, Mamot, & Hadijah, 2012). Terdapat bagian-bagian tanaman sirsak yang bisa dimanfaatkan sebagai obat yaitu bagian daun, batang, akar, buah dan biji (Adjie, 2011). Daun sirsak mempunyai khasiat yang bermacam-macam, pada penelitian terdahulu daun sirsak banyak dimanfaatkan masyarakat sebagai obat kanker yang dapat menghambat proses pertumbuhan dari tumor dengan cara menginduksi *apoptosis* dan menghambat pertumbuhan atau memperbanyak sel tumor (Suresh et al., 2011).

*Annonaceous acetogenin* ini merupakan senyawa yang memiliki potensi sitotoksik (Mardiana L, 2015). Selain itu terdapat senyawa flavonoid, steroid/terpenoid, alkaloid, saponin, kumarin, dan tanin. Kandungan senyawa yang terdapat dalam *acetogenin* yaitu golongan senyawa poliketida mempunyai 30– 32 rantai karbon lurus yang terikat pada gugus 5-metil-2-furanon. Rantai furanon pada gugus hidrofuranon senyawa C<sub>23</sub> memiliki aktivitas yaitu sitotoksik (Pradana, Suratmo, & Retnowati, 2015).

Senyawa *Annonaceous acetogenin* yang terdapat di daun sirsak memiliki fungsi sebagai inhibitor sumber energi yang berfungsi dalam perkembangan sel kanker. Kekuatan energi senyawa ini membuat sel tidak dapat membelah dengan baik. Pada saat senyawa *acetogenin* masuk ke dalam tubuh dan melekat pada reseptor dinding sel yang mengakibatkan rusaknya ATP pada dinding *mitokondria* yang dapat mengakibatkan berhentinya produksi sel kanker dan menyebabkan kematian pada sel (Utari, Nursafitri, Sari, Winda, & Harti, 2013). Pada penelitian Retnowati (2015) daun sirsak dapat menghasilkan isolasi *Annoceous acetogenins*. Senyawa tersebut memiliki aktivitas sitotoksik sehingga dapat mematikan sel kanker. Sel kanker sendiri yaitu penyakit yang dapat disebabkan oleh ketidak normalan perkembangan sel-sel pada jaringan tubuh (Pradana et al., 2015).

Uji toksisitas digunakan dalam mencari efek toksik ataupun tanda batas penggunaan tanaman sebagai obat. Pada penelitian ini menggunakan uji toksisitas akut dalam uji pra-klinik. Uji toksisitas akut ini dilakukan untuk menghitung nilai toksik dari senyawa yang dapat diketahui dalam waktu yang singkat, yaitu 1 hari atau 24 jam setelah pemberian dosis tunggal (Donatus, 2001). *Acetogenin* larut dalam pelarut polar (Am Zuhud, 2011), maka dilakukan ekstraksi menggunakan metode infundasi. Metode infusa yaitu metode penyarian yang dapat digunakan untuk menyaring kandungan senyawa aktif yang dapat larut dalam air. Penelitian ini dilakukan dengan cara *in vivo* pada hewan uji mencit menggunakan dosis tunggal secara bertahap. Pengamatan dilakukan dengan mengamati jumlah mencit yang mati dan gejala klinis yang timbul pada dosis selama 24 jam pemberian infusa. Tolak ukur kuantitatif yang dilakukan untuk menghitung letal dosis yaitu menggunakan *nilai Lethal Dose-50 (LD<sub>50</sub>)*. Untuk itu, penelitian ini mempunyai tujuan yaitu untuk mengetahui wujud efek toksik yang terdapat pada infusa daun sirsak secara uji toksisitas akut.

## **METODE**

Metode penelitian ini termasuk metode eksperimental yang dilakukan di laboratorium Farmakologi, Fakultas Sains, Teknologi, dan Kesehatan Universitas Sahid Surakarta dan dilaksanakan pada bulan Oktober 2020 sampai dengan Februari 2021. Penelitian ini sudah dapat mendapatkan persetujuan etik dengan Nomor: 17/I/HREC/2021.

### **Alat dan Bahan Penelitian**

Alat yang digunakan pada penelitian ini, yaitu blender, kandang mencit, timbangan analitik, kain flanel, kertas saring, panci infusa, hot plate, termometer alco, sonde oral, sarung tangan, alat-alat gelas: gelas ukur, pipet volume, batang pengaduk, dan beaker glass. Bahan yang digunakan pada penelitian ini, yaitu daun sirsak diperoleh dari rumah warga daerah Gentan Kartasura Jawa Tengah, aquadest, dan mencit (*Mus musculus L.*) yang diperoleh dari Unit Pengembangan Hewan Percobaan UGM Yogyakarta.

### **Pembagian Kelompok Hewan Uji**

Mencit yang digunakan sebanyak 5 ekor tiap dosis infusa. Sebelum perlakuan hewan uji mencit dipuaskan selama 18 jam. Selanjutnya semua mencit dilakukan suntik per oral. Terdapat 5 kelompok, kelompok 1 kontrol negatif menggunakan aquadest, kelompok 2

menggunakan infusa daun sirsak 5.56 mg/kgBB, kelompok 3 menggunakan infusa daun sirsak 78.62 mg/kgBB, kelompok 4 menggunakan infusa daun sirsak 175.36 mg/kgBB, kelompok 5 menggunakan infusa daun sirsak 386.96 mg/kgBB, kemudian diamati 1 x 24 jam setelah perlakuan (Abdul, Safitri, & Purbowati, 2020).

### **Pembuatan Infusa Daun Sirsak**

Ekstrak daun sirsak dilakukan dengan metode infusa, yaitu daun sirsak dalam bentuk simplisia kering, ditimbang sebanyak 76.8, 86.8, 96.8, 106.8 mg kemudian ditambahkan aquadest 100 mL. Infusa yang telah diperoleh kemudian dilakukan penyaringan menggunakan kertas saring dan diukur hasil rendemennya.

### **Infusa Daun Sirsak Dosis 5.56 mg/kgBB**

Infusa daun sirsak 5.56 mg/kgBB dibuat dengan cara menimbang simplisia kering sebanyak 76.8 mg daun sirsak kemudian ditambah pelarut aquadest sebanyak 100 mL. Infusa daun sirsak 5.56 mg/kgBB diberikan secara oral pada mencit *swis webster*. Infusa hanya diberikan sekali dengan volume 0.5 mL.

### **Infusa Daun Sirsak Dosis 78.62 mg/kgBB**

Infusa daun sirsak 78.62 mg/kgBB dibuat dengan cara menimbang simplisia kering sebanyak 86.8 mg daun sirsak kemudian ditambah pelarut aquadest sebanyak 100 mL. Infusa daun sirsak 78.62 mg/kgBB diberikan secara oral pada mencit *swis webster*. Infusa hanya diberikan sekali dengan volume 0.5 mL.

### **Infusa Daun Sirsak Dosis 175.36 mg/kgBB**

Infusa daun sirsak 175.36 mg/kgBB dibuat dengan cara menimbang simplisia kering sejumlah 96.8 mg daun sirsak kemudian ditambah pelarut aquadest 100 mL. Infusa daun sirsak 175.36 mg/kgBB diberikan secara oral pada mencit *swis webster*. Infusa hanya diberikan sekali dengan volume 0.5 mL.

### **Infusa Daun Sirsak Dosis 386.96 mg/kgBB**

Infusa daun sirsak 386.96 mg/kgBB dibuat dengan cara menimbang simplisia kering sejumlah 96.8 mg daun sirsak kemudian ditambah pelarut aquadest 100 mL. Infusa daun sirsak 386.96 mg/kgBB diberikan secara oral pada mencit *swis webster*. Infusa hanya diberikan sekali dengan volume 0.5 mL.

### **Analisis Data**

Data yang telah didapat akan dihitung dengan rumus perhitungan *Lethal Dose 50* menggunakan metode *Thomson and weil*.

## **HASIL DAN PEMBAHASAN**

### **Determinasi Tanaman**

Determinasi dilakukan di Universitas Setia Budi Jl. 1. Letjen Sutoyo, Mojosongo, Kec. Jebres, S Kota Surakarta. Hasil determinasi yang diperoleh yaitu tanaman sirsak (*Annona muricata* L.) menurut Steenis, C.G.G.J.V, Bloembergen, H, Eyma, P.J. 1992.

### **Uji Pendahuluan**

Hasil uji pendahuluan infusa daun sirsak yang digunakan untuk penelitian pada uji toksisitas akut infusa daun sirsak dapat dilihat pada tabel 1.

Tabel 1.  
Hasil Uji Pendahuluan Infusa Daun Sirsak (*Annona muricata* L.)

Senyawa Perekasi	Pereaksi	Perubahan yang diamati	Hasil
Alkaloid	Sampel + H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> + Dragendroff	Terbentuk endapan jingga	Positif
Flavonoid	Sampel + NaOH + Asam encer	Terbentuk larutan jernih	Positif
Tanin	Sampel + FeCl <sub>3</sub> 1 %	Terbentuk larutan warna coklat kehijauan	Positif
Terpenoid	Sampel + Kloroform + H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	Terbentuk warna coklat kemerahan pada lapisan batas	Positif

**Infundasi**

Hasil infusa daun sirsak dapat dilihat pada tabel 2. Metode infusa yang digunakan termasuk metode ekstraksi panas. Metode infusa yaitu metode penyarian yang dilakukan dengan cara menyari simplisia kering dalam air panas dengan suhu 90°C dan membutuhkan waktu 15 menit. Metode ini sering dilakukan untuk menyaring kandungan senyawa yang terlarut dalam senyawa polar yaitu air (Allen & Ansel, 2013).

Tabel 2. Hasil Infusa Daun Sirsak

Sampel	Berat Simplisia (gram)	Rendermen (mL)	Rendermen (%)
	76.8	30	39.06
Simplisia Daun Sirsak	86.8	24	27.64
( <i>Annona muricata</i> L.)	96.8	12	12.39
	106.8	6	5.61

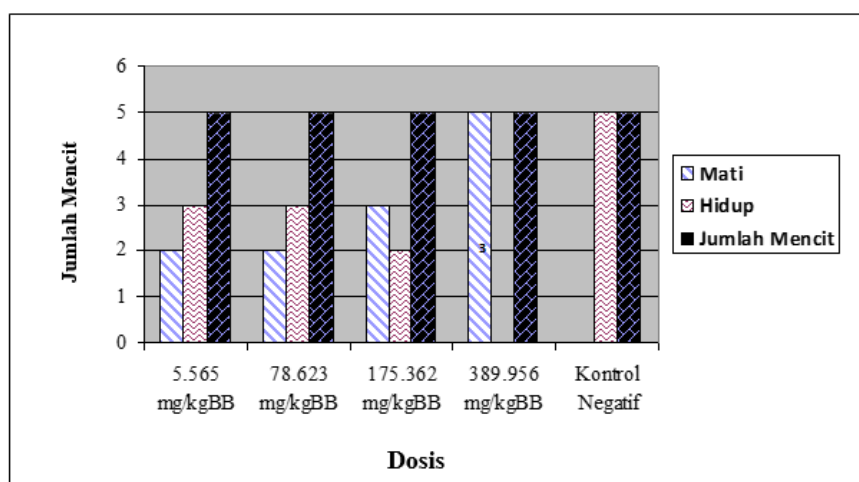
Keuntungan pada metode infusa adalah unit alat yang dipakai sangat sederhana sehingga biaya operasional yang diperlukan relatif rendah. Sedangkan kekurangan pada metode infusa yaitu hasil infundasi tidak dapat disimpan dan digunakan setelah 24 jam, sebab penyarian menggunakan pelarut air dapat menjadikan tidak stabilnya suatu infusa dan mudah di cemari jamur dan kapang (Aristya, 2015).

**Uji Toksisitas**

Hasil uji toksisitas infusa daun sirsak yang digunakan untuk penelitian pada uji toksisitas akut infusa daun sirsak dapat dilihat pada tabel 3 dan gambar 1.

Tabel 3.  
Hasil Pengamatan Jumlah Mencit yang Mati Hidup Setelah Pemberian Ekstrak Daun Sirsak (n=25)

Dosis Sediaan (gram)	Jumlah Mencit (n)	Jumlah Mencit	
		Mati	Hidup
76.8	5	2	3
86.8	5	2	3
96.8	5	3	2
106.8	5	5	0
Aqua destilata (kontrol Negatif)	5	0	5
Jumlah	25	12	13



Gambar 1. Grafik Hasil Pengamatan Jumlah Mencit Yang Mati Hidup Setelah Pemberian Ekstrak Daun Sirsak

Pada uji penelitian ini dibagi menjadi 4 konsentrasi dan 1 kontrol negatif. Perlakuan yang diberikan dengan dosis yang berbeda dilakukan repetisi sebanyak 5 kali. Dari hasil yang diperoleh kematian pada mencit dosis 5.56 mg/kgBB (2 mencit); 78.62 mg/kgBB (2 mencit); 175.36 mg/kgBB (3 mencit); 386.96 mg/kgBB (5 mencit). Pada kontrol negatif (aquadest) yang diberikan tidak menyebabkan kematian atau gejala klinis yang terjadi pada mencit yang menandakan tidak adanya efek toksik.

Pemberian infusa daun sirsak secara oral dapat menyebabkan senyawa yang terkandung dalam infusa daun sirsak diabsorpsi di dalam saluran pencernaan. Senyawa yang terkandung kemudian akan mengalami proses distribusi dan metabolisme pada bagian liver/hati yang sifatnya toksik dan memiliki fungsi sebagai inhibitor enzim untuk tahap metabolisme. Reaksi yang terjadi pada senyawa dengan reseptor dalam organ efektor yang menjadikan timbulnya gejala keracunan atau toksik. Setiap infusa yang diberikan akan memberikan respon atau efek yang berbeda-beda pada tiap dosisnya. Perbedaan respon tersebut diakibatkan oleh perbedaan tingkat kepekaan setiap dosis sampel (Jumain, Syahrini, & Farid, 2018).

Senyawa yang terdapat pada daun sirsak yaitu *annonaceous acetogenin*, flavonoid, alkaloid, tanin, dan terpenoid. Senyawa yang memiliki potensi sitotoksik yaitu *annonaceous acetogenin*. *Annonaceous acetogenin* ini merupakan senyawa turunan dari asam lemak rantai panjang. Aktivitas biologi dari *acetogenin* menunjukkan sifat toksisitas terhadap sel kanker dan menghambat aktivitas mitokondria kompleks 1 (Suryawinata & Sukohar, 2016).

**Data Nilai *Lethal Doses-50***

Nilai LD<sub>50</sub> dihitung menggunakan metode *Thompson and weil*. Hasil dari nilai LD<sub>50</sub> sebesar 49.82 mg/kgBB. Berdasarkan perhitungan dari metode *Thompson dan weil*, apabila nilai LD<sub>50</sub> yang dihasilkan 5 - 50 mg/kgBB, maka infusa daun sirsak termasuk kategori sangat toksik.

Rumus :  $\text{Log LD}_{50} = \text{Log D} + d (f+1)$   
 D = dosis terkecil yang diberikan  
 d = Logaritma kelipatan dosis  
 f = Faktor (tabel weil)  
 $\text{Log LD}_{50} = \text{Log D} + d (f+1)$   
 $\text{Log LD}_{50} = \text{Log } 5.565 \text{ mg} + \text{Log } 6,18 (0,66667 + 1)$   
 $= 3,745 + 0,790 (1,66667)$   
 $= 3,745 + 1,316$   
 $= 5,061$   
 $\text{LD}_{50} = 1152 \text{ mg} / 23,120 \text{ mg BB}$   
 $= 49,82 \text{ mg/Kg BB}$

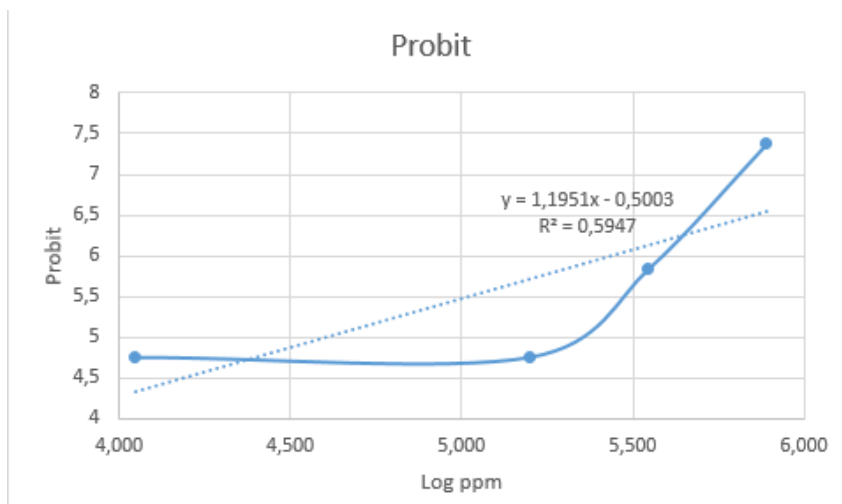
Gambar 2. Rumus Perhitungan Metode *Thompson and weil*

**Perhitungan Probit**

Hasil perhitungan nilai probit pada uji toksisitas akut infusa daun sirsak dapat dilihat pada tabel 4 dan gambar 3.

Tabel 4.  
 Hasil Perhitungan Nilai Probit Pada Uji Toksisitas Akut Infusa Daun Sirsak

Dosis (mg/KgBB)	ppm	Log (ppm)	Probit	Dead	Mortality	Total
5.56	153.6	2.1864	4.75	40 %	2	5
78.62	173.6	2.2395	4.75	40 %	2	5
175.36	193.6	2.2869	5.84	60 %	3	5
389.96	213.6	2.3296	7.37	100 %	5	5



Gambar 3. Grafik Hasil Perhitungan Nilai Probit Pada Uji Toksisitas Akut Infusa Daun Sirsak

Hasil perhitungan nilai probabilitasnya dihitung menggunakan regresi linier  $y = ax + b$ . Hasil dari regresi linear yaitu 0.041% atau 4.08 g/100 mL.

## SIMPULAN

Berdasarkan hasil analisis data yang telah diperoleh dan telah dilakukan pembahasan penelitian serta pengamatan maka dapat di simpulkan bahwa terdapat wujud efek toksik keracunan pada hewan uji mencit, yang menandakan bahwa terdapat senyawa yang bersifat toksik pada infusa daun sirsak. Nilai LD<sub>50</sub> yang telah dihitung dari hasil uji toksisitas akut ekstrak daun sirsak menggunakan metode *Thompson and weil* sebesar 49.82 mg/kgBB < 5 - 50 mg/Kg BB yang termasuk dalam kategori sangat toksik.

## DAFTAR PUSTAKA

- Abdul, A., Safitri, F. W., & Purbowati, R. (2020). Efek Pemberian Ekstrak Etanol Buah Adas (*Foenicullum vulgare* Mill.) terhadap Kadar Hormon Prolaktin Tikus Putih Betina Post Partum. *Pharmacon: Jurnal Farmasi Indonesia*, 17(1), 1– 8. <https://doi.org/10.23917/pharmacon.v17i1.9245>
- Adjie, S. (2011). Dahsyatnya sirsak tumpas penyakit. In *Pustaka Bunda*. Jakarta: Pustaka Bunda.
- Allen, L., & Ansel, H. C. (2013). *Ansel' s pharmaceutical dosage forms and drug delivery systems*. Lippincott Williams & Wilkins.
- Am Zuhud, E. (2011). *Bukti Kedahsyatan: Sirsak Menumpas Kanker*. AgroMedia.
- Aristya, A. (2015). *Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Dan Infusa Kulit Batang Bauhinia Varigata L. Pada Bakteri Streptococcus Mutans*. Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- Donatus, I. A. (2001). *Toksikologi Dasar. Laboratorium Farmakologi dan Toksikologi*. UGM Press, Yogyakarta.
- Jumain, J., Syahrini, S., & Farid, F. (2018). Uji Toksisitas Akut Dan LD50 Ekstrak Etanol Daun Kirinyuh (*Eupatorium odoratum* Linn) Pada Mencit (*Mus musculus*). *Media Farmasi*, 14(1), 28– 34.
- Mardiana L. (2015). *Ramuan Dan Khasiat Tanaman Sirsak*. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Pradana, P. Y., Suratmo, S., & Retnowati, R. (2015). Isolasi dan karakterisasi senyawa turunan acetogenin dari daun sirsak (*Annona muricata*) serta uji toksisitas. *Jurnal Ilmu Kimia Universitas Brawijaya*, 1(1), pp-798.
- Suresh, H. M., Shivakumar, B., Hemalatha, K., Heroor, S. S., Hugar, D. S., & Rao, K. R. S. S. (2011). In vitro antiproliferative activity of *Annona reticulata* roots on human cancer cell lines. *Pharmacognosy research*, 3(1), 9.
- Suryawinata, A., & Sukohar, A. (2016). Potensi annonaceous acetogenins dari sirsak (*Annona muricata*) sebagai agen kemoterapi melalui induksi apoptosis dan inhibisi HIF-1. *Jurnal Majority*, 5(5), 97– 101.
- Syahida, M., Maskat, M. Y., Suri, R., Mamot, S., & Hadijah, H. (2012). Soursop (*Annona muricata* L.): Blood hematology and serum biochemistry of sprague-dawley rats. *International Food Research Journal*, 19(3), 955.
- Utari, K., Nursafitri, E., Sari, R., Winda, A. K., & Harti, A. S. (2013). Kegunaan daun sirsak

(*Annona muricata* L) untuk membunuh sel kanker dan pengganti kemoterapi. *Jurnal Kesehatan Kusuma Husada*.