

ARTIKEL PENELITIAN

**UJI TOKSISITAS AKUT EKSTRAK ETANOL DAUN SALAM (*Syzygium polyanthum*)
PADA MENCIT GALUR DDY (*Mus musculus*)
(ACUTE TOXICITY TEST OF ETHANOL EXTRACT BAY LEAF (*Syzygium
polyanthum*) AGAINST MICE (*Mus musculus*) DDY STRAIN)**

Maman Djamaludin¹, Ris Kristiana², Bagus Yuda Permana³

¹Laboratorium Farmakologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Jenderal Achmad Yani,
Cimahi, Jawa Barat, Indonesia

²Laboratorium Patologi Anatomi, Fakultas Kedokteran, Universitas Jenderal Achmad Yani,
Cimahi, Jawa Barat, Indonesia

³Program Studi Kedokteran, Fakultas Kedokteran, Universitas Jenderal Achmad Yani,
Cimahi, Jawa Barat, Indonesia

Email Korespondensi: kristiana1980@gmail.com

ABSTRAK

Daun salam (*Syzygium polyanthum*) adalah salah satu tanaman di Indonesia yang dipergunakan sebagai tanaman obat alternatif seperti obat antidiare, antiinflamasi, dan antidiabetes. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui toksisitas akut ekstrak etanol daun salam (EEDS) terhadap mencit galur DDY yang dilihat dari kematian mencit, perubahan perilaku, perubahan berat badan, dan nilai indeks organ. Penelitian ini dilakukan dengan metode eksperimental menggunakan 24 mencit putih jantan dan 24 mencit betina (*Mus musculus*) galur DDY yang dibagi menjadi 4 kelompok di setiap jenis dengan variasi dosis 1250 mg/kgBB, 2500 mg/kgBB, 5000 mg/kgBB, dan kelompok kontrol negatif. Pengamatan yang dilakukan pada penelitian ini yaitu kematian mencit, perubahan perilaku, perubahan berat badan, dan nilai indeks organ. Indeks organ yang dinilai adalah jantung, paru-paru, hati, limpa, ginjal, testis, vesica seminalis pada mencit jantan, serta ditambah organ ovarium, uterus pada mencit betina. Data dianalisis secara statistik menggunakan uji *one way ANOVA*. Hasil penelitian menunjukkan bahwa daun salam tidak menyebabkan kematian mencit, perubahan perilaku, perubahan berat badan, dan perubahan indeks organ mencit. Berdasarkan hasil tersebut dapat disimpulkan bahwa daun salam termasuk kategori praktis tidak toksik menurut klasifikasi dari BPOM tahun 2014.

Kata kunci: daun salam, indeks organ, perubahan berat badan, toksisitas akut

ABSTRACT

Bay leaves (Syzygium polyanthum) is one of the plants in Indonesia used as an alternative medicinal plant such as antidiarrheal, anti-inflammatory, and antidiabetic drugs. This

research aims to determine acute toxicity of bay leaves on DDY strain mice as seen from the death of mice, changes in behaviour, changes in body weight, and organ index values. This research was conducted by an experimental method using 24 male white mice and 24 female mice (Mus musculus) DDY strain divided into 4 groups in each type with varying doses of 1250 mg / kgBW, 2500 mg / kgBW, 5000 mg / kgBW, and negative control groups. Observation in this study include the death of mice, changes in behaviour, body weight, and organ index values. Organ index that measured were heart, lung, liver, spleen, kidney, testes, seminal vesicle in male mice, and ovaries, uterus in female mice. Data were analyzed statistically using the one way ANOVA test. The results showed that bay leaves did not cause mice death, behaviour changes, weight changes, and organ index of mice. Based on these results it can be concluded that bay leaves is practically non-toxic according to the classification of the BPOM 2014.

Keywords: acute toxicity, bay leaf, organ index, weight change

PENDAHULUAN

Obat tradisional adalah bahan atau ramuan berupa tumbuhan, bagian hewan, mineral, atau campuran dari bahan-bahan tersebut yang digunakan secara turun-temurun untuk pengobatan. Obat tradisional juga sering disebut Obat Bahan Alam.¹ Penggunaan obat tradisional terus mengalami kenaikan, namun bukti ilmiah efektivitas dan keamanannya masih terbatas.¹ Menurut data dari Susenas (Survey Sosial Ekonomi Nasional) Maret 2017 yang melakukan survei di setiap provinsi di Indonesia tentang Popularitas Pengobatan Tradisional Alternatif menunjukkan kurang lebih 50% masyarakat Indonesia masih melakukan pengobatan tradisional alternatif menggunakan obat tradisional atau sering disebut obat bahan alam.²

Salah satu dari sekian banyaknya tanaman yang digunakan sebagai obat

tradisional adalah daun salam. Daun salam merupakan tanaman yang telah banyak dikenal oleh masyarakat, dan biasanya banyak dimanfaatkan sebagai bumbu dapur atau rempah-rempah penyedap masakan karena memiliki aroma yang khas. Selain itu, daun salam sering dimanfaatkan masyarakat untuk pengobatan alternatif karena tumbuhan ini banyak terdapat di masyarakat dan mudah didapatkan. Daun salam dikenal dengan nama salam di Jawa, Madura, dan Sunda, *kastolam* di Kangean dan Sumenep, *manting* di Jawa, *meselengan* di Sumatra dan *ubar serai* di daerah melayu.^{3,4} Daun salam memiliki kandungan yang kaya dengan senyawa kimia, daun salam sering digunakan untuk mengobati penyakit gastritis, diare, tekanan darah tinggi, dan kolesterol dengan menurunkan kadar kolesterol total dan masih banyak penyakit lainnya.⁵ Berdasarkan penelitian yang telah

dilakukan, daun salam mengandung senyawa steroid, fenolik, saponin, flavonoid, alkaloid, dan minyak atsiri.⁶ Senyawa utama yang terkandung di dalam daun salam adalah flavonoid.

Berdasarkan data diatas peneliti bermaksud melakukan uji tahap preklinik yang berupa uji toksisitas akut ekstrak daun salam, mengingat uji toksisitas ini sangat penting untuk mendeteksi toksisitas intrinsik suatu zat, menentukan organ sasaran, kepekaan spesies, memperoleh informasi bahaya setelah pemaparan suatu zat secara akut, memperoleh informasi awal yang dapat digunakan untuk menetapkan tingkat dosis, merancang uji toksisitas selanjutnya, memperoleh nilai LD50 suatu bahan/ sediaan, serta penentuan penggolongan bahan/ sediaan dan pelabelan.⁷

BAHAN DAN METODE PENELITIAN

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah ekstrak daun salam. Penelitian ini merupakan penelitian laboratorium eksperimental dengan menggunakan subjek penelitian hewan coba yang secara acak dipisahkan menjadi empat kelompok dengan desain Rancangan Acak Lengkap (RAL) untuk melihat efek toksik ekstrak etanol daun salam (EEDS). Penelitian tersebut dilakukan di Laboratorium Hewan dan Laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran

Universitas Jenderal A. Yani untuk menguji toksisitas akut ekstrak etanol daun salam dengan variasi dosis 1250 mg/kgBB, 2500 mg/kgBB dan 5000 mg/kgBB. Penilaian terhadap efek toksisitas akut meliputi perubahan berat badan mencit, indeks organ mencit (ginjal, hati, paru, jantung, limpa) dan kematian pada hewan percobaan.

Pembuatan EEDS

Simplisia bahan baku 1kg basah yang telah dihaluskan dimasukkan ke dalam maserator yang telah diberi kapas alasnya dan didiamkan selama 24 jam. Pelarut etanol ditambahkan ke dalam ampas yang ada di dalam maserator begitu seterusnya sampai pelarut yang ke luar *outlet* maserator tidak berwarna lagi (biasanya 5-6 kali redaman).

Perlakuan Hewan Coba

Semua mencit dilakukan masa adaptasi selama tujuh hari dengan cara ditempatkan di kandang mencit dan diberi serutan kayu, dengan suhu ruangan $22^{\circ}\pm 3^{\circ}$ C, ventilasi terdapat pada sekeliling kandang dengan harapan mencit mendapatkan rasa nyaman selama penelitian dan diberi pakan (pellet 511) dan air minum (akuabides) serta diperhatikan kesehatannya. Mencit yang dibagi menjadi 4 kelompok diberikan perlakuan sebagai berikut:

1. Kelompok 1 (K) : sebagai kelompok kontrol negatif, tidak diberikan perlakuan apapun kecuali air dan pelet selama 14 hari.
2. Kelompok 2 (P1) : diberikan EEDS dosis 1250 mg/kgBB.
3. Kelompok 3 (P2) : diberikan EEDS dosis 2500 mg/kgBB.
4. Kelompok 4 (P3) : diberikan EEDS dosis 5000 mg/kgBB.

Pengamatan Hewan Coba

Pengamatan dilakukan 24 jam setelah pemberian EEDS kemudian mencit diamati meliputi perubahan berat badan, perubahan perilaku, indeks organ dan kematian mencit.²¹

1. Penimbangan berat badan dilakukan pada awal dan akhir pada masa adaptasi. mulai dari hari ke-1 hingga hari ke-14. Pada hari ke-15 mencit di anestesi dengan CO₂ secara inhalasi dengan konsentrasi 30% untuk dilakukan eutanasia dan pembedahan untuk mendapatkan organ-organ mencit.
2. Index organ didapat dengan cara menghitung berat masing-masing organ (paru, limpa, jantung, hati, dan ginjal) dikalikan 100 dan dibagi berat badan pada hari ke 14. Berat organ relatif mencit yang dihitung dengan

rumus $ROW = \frac{\text{Berat organ vital (g)}}{\text{BB mencit (g)}} \times 100$.

3. Perubahan perilaku mencit berkaitan dengan gejala toksik yang diobservasi sebelum dan setelah diberikan perlakuan yaitu aktivitas lokomotors, fenomena Straub, piloereksi, ptosis, refleks kornea, refleks pineal, lakrimasi, vasodilatasi, katalepsi, menggantung, *reestablishment*, fleksi, *haffner*, regangan, *grooming*, tremor, vokalisasi, saliva, defekasi, dan urinasi
4. Kematian mencit diamati pada saat penelitian berlangsung, yaitu mulai hari ke-1 sampai hari ke-14 setelah perlakuan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pengaruh Daun Salam terhadap Jumlah Kematian Mencit

Hasil pengamatan kematian hewan coba selama empat belas hari perlakuan menunjukkan tidak ada hewan coba pada kelompok jantan dan betina galur DDY yang mati baik pada kelompok kontrol maupun kelompok perlakuan atau 0% kematian. Hal ini menunjukkan bahwa pemberian dosis tunggal secara oral ekstrak etanol daun salam sampai dengan dosis maksimum yang masih dapat diberikan secara teknis pada hewan uji (5000 mg/kgBB) atau sekitar 200 kali dosis yang lazim dipakai pada manusia

tidak menimbulkan kematian pada hewan coba. Dosis tertinggi tersebut dinyatakan sebagai DL₅₀ semu, sementara DL₅₀ oral ekstrak etanol daun salam untuk mencit lebih besar dari 5000 mg/kgBB.

Berdasarkan kriteria *Generally Recognized As Safe* (GRAS) hasil tersebut mempunyai makna toksikologi bahwa potensi ketoksikan akut ekstrak etanol daun salam termasuk dalam kategori praktis tidak toksik atau ekstrak etanol daun salam pada dosis pemberian tertinggi tidak memberikan efek toksik atau terkategori NOAEL (*no observed adverse effects level*).^{8,15}

Pengaruh Daun Salam terhadap Pengamatan Perilaku Mencit

Pada pengamatan farmakologi hewan coba setelah perlakuan didapatkan hasil bahwa tidak terdapat gejala-gejala toksik berarti yang timbul setelah pemberian ekstrak etanol daun salam (*Syzygium polyanthum*) terhadap mencit jantan dan betina pada menit ke-30, ke-60, ke-120 dan ke-240 seperti terlihat pada Tabel 1 dan 2 .

Berdasarkan Tabel 1 dan 2 menunjukkan data hasil pengamatan perubahan perilaku terhadap mencit jantan dan betina galur DDY. Pengamatan terhadap adanya gejala toksik untuk mengetahui organ dan sistem yang

dipengaruhi oleh sediaan uji. Gejala toksik ditandai dengan perubahan perilaku pada hewan uji. Gejala toksik terhadap susunan saraf pusat dilakukan dengan mengamati ada atau tidaknya sedasi, konvulsi, dan tremor. Gejala toksik terhadap susunan saraf sensoris dilakukan mengamati ada tidaknya refleks pineal, refleks korneal, fleksi dan haffner. Pengamatan susunan saraf otonom dilakukan mengamati ada atau tidaknya salivasi, lakrimasi, dan urinasi. Pengamatan sistem neuromuskular dilakukan aktivitas motorik dan fenomena Straub. Pengamatan sistem pencernaan dilakukan dengan pengamatan defekasi. Ptosis merupakan gejala yang timbul pada organ mata dan piloereksi gejala yang timbul pada organ kulit.^{9,10}

Pengamatan dilakukan pada titik waktu pengamatan T0, T30 menit, T60 menit, T120 menit, dan T240 menit dengan durasi pengamatan selama dua menit untuk masing-masing titik waktu kecuali untuk gelantung, *reestablishment*, refleks korneal, refleks pineal, fleksi, dan haffner. Hasil pengamatan secara umum terlihat tidak mempengaruhi refleks korneal, refleks pineal, fleksi dan haffner terhadap hewan uji jantan maupun betina yang mengindikasikan bahwa ekstrak etanol daun salam tidak mempengaruhi sistem organ susunan saraf pusat.^{9,10}

Tabel 1 Rerata persentase nilai pengamatan farmakologi gejala toksisitas mencit jantan

Gejala diamati		Pengamatan Farmakologi (%)			
		Kontrol	1250 mg/kgBB	2500 mg/kgBB	5000 mg/kgBB
Jumlah jengukan	↑	4,5	4,1	3,5	4,8
	↓	4	4,3	3,7	4,5
Aktivitas motorik (Normal)		100	96	100	80
Diam		30	45	20	35
Fenomena Straub		0	0	0	0
Piloereksi		0	0	0	0
Ptosis		0	0	0	0
Refleks Corneal		100	100	100	100
Refleks Pineal		100	100	100	100
Lakrimasi		0	0	0	0
Vasodilatasi		0	0	0	0
Katalepsi		0	0	0	0
Gelantungan		100	100	96	100
<i>Retabishment</i>		100	100	96	100
Fleksi		100	100	100	100
<i>Grooming</i>		55	45	35	32
Tremor		0	0	0	0
Vokalisasi		0	0	0	0
Saliva		0	0	0	0
Mortilitas		0	0	0	0
Sikap tubuh		100	100	96	96
Defekasi		42	20	28	20
Urinasi		20	21	16	20

Pada hewan coba yang diberi sediaan ekstrak etanol daun salam terjadi peningkatan jumlah jengukan pada mencit jantan mulai mencit jantan pada *platform* mulai dosis 1250 mg/kgBB pada T30, T60, T120 dan T240 menit yang menunjukkan adanya peningkatan rasa ingin tahu mencit sedangkan pada mencit betina tidak ada perubahan jumlah jengukan.^{9,10}

Perubahan lain yang cukup signifikan adalah adanya penurunan gejala *grooming* baik pada mencit jantan maupun betina dibanding kontrol. Gejala *grooming* yang terjadi kemungkinan disebabkan oleh adanya depresi sistem saraf pusat terutama pada mencit betina terlihat penurunan sikap tubuh.^{9,10}

Tabel 2 Rerata persentase nilai pengamatan farmakologi gejala toksisitas mencit betina

Gejala diamati	Pengamatan Farmakologi (%)				
	Kontrol	1250 mg/kgBB	2500 mg/kgBB	5000 mg/kgBB	
Jumlah jengukan	↑	4	4,2	4,7	5,8
	↓	2,4	2,9	3,2	4,6
Aktivitas motorik (Normal)	100	75	80	100	
Diam	13,5	15,7	20,1	10	
Fenomena Straub	0	0	0	0	
Piloereksi	0	0	0	0	
Ptosis	0	0	0	0	
Refleks Corneal	100	100	100	100	
Refleks Pineal	100	100	100	100	
Katalepsi	0	0	0	0	
Gelantungan	100	100	100	100	
<i>Retabishment</i>	100	100	100	100	
Fleksi	100	100	100	100	
Hafner	100	100	100	100	
Gliat	0	0	0	0	
<i>Grooving</i>	60	20	39	35	
Tremor	0	0	0	0	
Vokalisasi	0	0	0	0	
Saliva	0	0	0	0	
Mortilitas	0	0	0	0	
Sikap tubuh	100	100	100	100	
Defekasi	20	26,3	40	45	
Urinasi	10	15	30	25	

Pengaruh Daun Salam terhadap Berat Badan Mencit

Tabel 3 Pengaruh ekstrak daun salam berbagai dosis terhadap berat badan mencit jantan sebelum dan setelah perlakuan

Perlakuan	Sebelum Perlakuan	Setelah Perlakuan	Selisih	Nilai P*
Kontrol	24,00±2,17	34,17±0,98	10,17±2,58	0,200
EDS 1250mg/kgBB	26,67±1,97	40,33±3,93	13,67±4,46	
EDS 2500mg/kgBB	27,67±2,42	39,33±4,46	11,67±5,43	
EDS 5000mg/kgBB	25,67±2,16	40,00±6,75	14,33±5,61	

Keterangan : *kruskal wallis test*, , $p > 0,05$ (Tidak Terdapat perbedaan yang bermakna)

Tabel 3 menunjukkan data berat badan mencit jantan sebelum dan setelah perlakuan tidak adanya perbedaan yang bermakna karena didapatkan nilai $p = 0,200$ ($P > 0,05$).

Artinya, peningkatan berat badan mencit jantan pada ke-4 kelompok yang berbeda memiliki peningkatan yang hampir sama.

Tabel 4 Pengaruh EEDS berbagai dosis terhadap berat badan mencit betina sbelum dan setelah perlakuan

Perlakuan	Seb. Perlakuan	Set. Perlakuan	Selisih	Nilai P*
Kontrol	23,67±2,42	34,00±2,53	10,33±3,14	0,997
EEDS 1250mg/kgBB	28,08±3,32	38,33±4,63	10,25±5,74	
EEDS 2500mg/kgBB	30,50±2,07	40,33±2,80	9,83±4,12	
EEDS 5000mg/kgBB	31,00±1,26	41,00±3,35	10,00±3,63	

Keterangan : *Kruskal wallis test*, $p > 0,05$ (Tidak Terdapat perbedaan yang bermakna)

Tabel 4 menunjukkan data berat badan mencit betina sebelum dan setelah perlakuan tidak adanya perbedaan yang bermakna karena didapatkan nilai $p = 0,997$ ($P > 0,05$). Artinya, peningkatan berat badan mencit betina pada ke-4 kelompok yang berbeda memiliki peningkatan yang hampir sama.

Penimbangan berat badan hewan uji dilakukan setiap hari selama 14 hari, hal ini dilakukan untuk mengetahui perubahan berat badan hewan uji. Hasilnya tidak terjadi perubahan berat badan pada kelompok jantan maupun betina sebelum dan setelah perlakuan yang bermakna. Adapun perubahan berat badan mencit jantan maupun betina dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor. Seperti, kandungan senyawa pada sediaan uji dan faktor

internal dan eksternal dari hewan percobaan.

Daun salam mengandung beberapa senyawa seperti flavonoid, saponin dan tanin. Senyawa tanin bersifat mudah berikatan dengan protein sehingga dapat menyebabkan protein yang berada di permukaan usus mengendap sehingga mengurangi penyerapan makanan. Menurut penelitian Utomo (2008) menyatakan bahwa senyawa tanin yang terkandung dalam tumbuhan dengan dosis 2000 mg/kgBB efektif dapat menurunkan berat badan.^{11,12}

Perubahan berat badan hewan coba juga dapat dipengaruhi oleh faktor dari hewan coba tersebut. Faktor-faktor yang dapat mempengaruhi yaitu, faktor internal gen yang merupakan faktor penentu sifat

yang diturunkan dari induk dan hormon yang akan mengatur seluruh aktivitas di dalam tubuh. Selain itu, terdapat faktor eksternal seperti makanan, sinar matahari, aktivitas, suhu dan lingkungan.^{13,16,17}

Pengaruh Daun Salam terhadap Indeks Organ

Selain dilakukan pengamatan berat badan, dilakukan pembedahan dan pengamatan organ-organ dalam pada seluruh kelompok mencit pada hari ke-15. Secara makroskopik organ mencit ketiga

kelompok tidak menunjukkan perbedaan warna, bentuk antar perlakuan. Selanjutnya dilakukan penghitungan berat organ relatif. Data berat organ relatif terdistribusi normal ($p > 0,05$), kecuali organ testis. Uji statistik yang digunakan selanjutnya adalah uji parametrik *ANOVA Test* dan uji lanjut untuk menguji kelompok yang paling toksik digunakan *Post hoc* dan untuk yang tidak terdistribusi normal maka menggunakan uji Kruskal wallis, dapat dilihat pada Tabel 5.

Tabel 5 Pengaruh ekstrak daun salam berbagai dosis terhadap indeks organ mencit jantan sebelum dan setelah perlakuan

Indeks Organ	Perlakuan				Nilai P
	Kontrol	EDS 1250mg/kgBB	EDS 2500mg/kgBB	EDS 5000mg/kgBB	
Hati	1,85±0,23	2,03±0,27	1,61±0,45	2,07±0,37	0,107*
Jantung	0,22±0,04	0,19±0,04	0,21±0,03	0,25±0,07	0,180*
Paru-paru	0,25±0,08	0,28±0,08	0,33±0,06	0,29±0,02	0,206*
Ginjal	0,55±0,05	0,52±0,12	0,52±0,12	0,59±0,12	0,567*
Limpa	0,34±0,08	0,44±0,07	0,44±0,20	0,43±0,08	0,453*
Testis	0,89±0,23	0,77±0,28	0,80±0,40	0,85±0,27	0,869**
Vesica Seminalis	0,13±0,05	0,20±0,07	0,13±0,07	0,11±0,07	0,146*

Keterangan : *=*Oneway Anova test*, **=*kruskal wallis*, $p > 0,05$ (Tidak terdapat perbedaan yang bermakna)

Berdasarkan Tabel 5 pada semua data berat organ relatif hati, jantung, paru-paru, ginjal, limpa, testis, dan *vesica seminalis* didapatkan nilai $p > 0,05$, hasil tersebut menunjukkan bahwa tidak terdapat perbedaan berat organ relatif yang bermakna. Dari hasil analisis tersebut dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol

daun salam tidak memengaruhi berat organ relatif hati, jantung, paru-paru, ginjal, limpa, testis dan *vesica seminalis* pada mencit jantan.

Pada mencit betina, berat organ relatif berdistribusi normal ($p > 0,05$), kecuali organ jantung, paru-paru dan ginjal. Uji statistik yang digunakan selanjutnya adalah

uji parametrik *ANOVA Test* dan uji lanjut untuk menguji kelompok yang paling toksik digunakan *Post hoc* dan untuk yang tidak berdistribusi normal menggunakan uji *Kruskal wallis*, dapat dilihat pada Tabel 6.

Pada semua data berat organ relatif hati, jantung, ginjal, limpa, ovarium dan uterus didapatkan nilai $p > 0,05$, hasil tersebut menunjukkan bahwa tidak terdapat perbedaan berat organ relatif yang bermakna. Dari hasil analisis tersebut

dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol daun salam tidak memengaruhi berat organ relatif hati, jantung, ginjal, limpa, ovarium dan uterus. Sedangkan pada data perbandingan organ paru-paru, terlihat bahwa ekstrak etanol daun salam mempengaruhi berat organ secara signifikan ($p < 0,05$). Selanjutnya untuk melihat manakah yang memiliki perbedaan signifikan, maka dilakukan uji lanjut dengan *Mann Whitney*.

Tabel 6 Pengaruh ekstrak daun salam berbagai dosis terhadap indeks organ mencit betina sebelum dan setelah perlakuan

Indeks Organ	Perlakuan				Nilai P
	Kontrol	EDS 1250mg/kgBB	EDS 2500mg/kgBB	EDS 5000mg/kgBB	
Hati	2,06±0,41	2,37±0,44	2,27±0,59	2,51±0,30	0,377*
Jantung	0,16±0,06	0,24±0,08	0,23±0,04	0,25±0,06	0,076**
Paru-Paru	0,24±0,03	0,38±0,11	0,35±0,06	0,32±0,01	0,015**
Ginjal	0,41±0,10	0,48±0,13	0,46±0,10	0,51±0,03	0,262**
Limpa	0,38±0,08	0,57±0,24	0,44±0,09	0,43±0,10	0,154*
Ovarium	0,23±0,07	0,44±0,20	0,46±0,28	0,57±0,16	0,051*
Uterus	0,09±0,04	0,13±0,08	0,13±0,05	0,13 0,01	0,507*

Keterangan : *=*Oneway Anova test*, **=*kruskal wallis*, $p > 0,05$ (Tidak terdapat perbedaan yang bermakna)

Dari Uji lanjut *Mann Whitney* menunjukkan nilai $p < 0,05$ pada EDS 1250 mg/kgBB, 2500 mg/kgBB dan 5000 mg/kgBB terhadap kontrol negatif maka memiliki perbedaan yang bermakna, sedangkan perbandingan antar dosis ekstrak daun salam tidak memiliki perbedaan bermakna.

Hasil penilaian berat organ relatif mencit jantan dan betina yang diberi sediaan ekstrak etanol daun salam di semua dosis tidak ditemukan perubahan warna, ukuran, dan bentuk dibandingkan dengan kelompok kontrol. Persentase berat organ kemudian diuji secara statistik dengan menggunakan *uji Kruskall Wallis*.

Berat organ relatif hati, paru, jantung, ginjal, limpa, *vesica seminalis*, dan testis pada kelompok hewan uji jantan pada dosis tidak terjadi perubahan makroskopis atau tidak terdapat perbedaan bermakna ($p > 0,05$) dibandingkan dengan kontrol. Hal tersebut menunjukkan ekstrak daun salam tidak berefek toksik pada organ vital mencit jantan terutama hepar dan ginjal sebagai sasaran utama dari efek toksik. Hasil berat organ relatif mencit betina yaitu jantung, ginjal, hati, limpa, uterus dan ovarium tidak mengalami perubahan (normal) dan tidak menunjukkan perbedaan bermakna ($p > 0,05$) dibandingkan kelompok kontrol pada pemberian sediaan uji ekstrak etanol daun salam pada setiap tingkatan dosis. Sedangkan pada EDS 1250 mg/kgBB, 2500 mg/kgBB dan 5000 mg/kgBB terhadap kelompok kontrol organ paru-paru menunjukkan adanya perbedaan yang bermakna, kemungkinan penyebab peningkatan berat organ relatif paru yang bermakna terjadi karena adanya respons inflamasi yang disebabkan dari pemberian ekstrak daun salam.^{18,19}

Berdasarkan hasil penelitian uji toksisitas subkronis ekstrak etanol daun salam yang dilakukan Sri Adi Sumiwi et al, tahun 2018 pada tikus Wistar diketahui sampai 1000 mg/kgBB tidak menunjukkan toksis.¹⁴ Hasil penelitian ini menunjukkan

bahwa sampai dosis 5000 mg/kgBB ekstrak etanol daun salam tidak menimbulkan efek toksik terhadap hewan uji serta tidak menyebabkan kematian selama 14 hari pengamatan. Ini mengindikasikan bahwa ekstrak etanol daun salam sampai dosis 5000 mg/kgBB aman untuk digunakan sesuai dengan batas uji keamanan yang dikeluarkan Badan Pengawas Obat dan Makanan (BPOM).¹³ Berdasarkan hasil tersebut juga dapat diketahui derajat toksisitas untuk ekstrak daun salam menurut klasifikasi praktis tidak toksik sebab tidak ditemukan adanya kematian pada tingkat dosis 5000 mg/kgBB.

KESIMPULAN

Pemberian EEDS dengan dosis bertingkat (1250 mg/kgBB, 2500 mg/kgBB dan 5000 mg/kgBb) tidak menyebabkan kematian, tidak menimbulkan gejala toksik (perubahan perilaku) dan perubahan berat badan baik pada mencit jantan maupun betina. Pembesaran organ hanya terjadi pada mencit betina yaitu organ paru.

Dari kesimpulan di atas dapat disarankan kepada masyarakat untuk memperhatikan dosis pemakaian, karena dari hasil EEDS seluruh kelompok perlakuan betina memengaruhi organ paru-paru. Selain itu diperlukan penelitian

selanjutnya (uji toksisitas subkronik) untuk melihat ada atau tidaknya perubahan struktur jaringan dari organ-organ terkait.

KONFLIK KEPENTINGAN

Tidak ada

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih disampaikan kepada para profesional yang telah membantu penelitian dan penyusunan makalah, pemberi dana, bahan dan sarana penelitian, serta sponsor yang terkait.

DAFTAR PUSTAKA

1. Katno. Tingkat Manfaat Keamanan dan Efektifitas Tanaman Obat dan Obat Tradisional. Karanganyar: Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Obat dan Obat Tradisional (B2P2TO-OT) Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan Departemen Kesehatan RI;2008. Hal 1.
2. Survey Sosial Ekonomi Nasional (Susenas), Badan Pusat Statistik (BPS). Popularitas Pengobatan Tradisional Alternatif. Susenas. BPS. Jakarta.2017.
3. Kementrian Perdagangan RI. Warta Ekspor Obat Herbal Tradisional.Jakarta: Ditjen PEN.2014.hal.2-5.
4. Dalimartha, S. Atlas Tumbuhan Obat indonesia Jilid 2. Jakarta: Trubus Agriwidya; 2000. Hal. 162-163.
5. Kemenkes, RI., 2011. 100 Top Tanaman Obat. Jakarta: Kementrian Kesehatan RI.
6. Liliwirianis, et al . 2011. Preliminary Studies On Phytochemical Screening Of Ulam And Fruit From Malaysia. *E-journal Of Chemistry*, Volume VIII.
7. Peraturan Kepala Badan Pengawas Obat Dan Makanan Nomor 7 Tahun 2014 Tentang Pedoman Uji Toksisitas Nonklinik Secara In Vivo. 2014.
8. Darelanko, Michael J., Hollinger, Manfred A. *Handbook of Toxicology*. 2nd edition. CRC Press,2002.
9. Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Cara pembuatan simplisia. Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan makanan. Jakarta.1985.
10. Hau J, Gerald L Van Hoosier JR. *Handbook of Laboratory Animal Science*.Vol.2; 2005. doi:10.1201/9781420040913.
11. Utomo AW. Uji Toksisitas Akut Ekstrak Alkohol Daun Jati Belanda (*Guazuma ulmifolia* LAMK) pada Tikus Wistar. Semarang: Fakultas Kedokteran Universitas Diponogor.2008.
12. MilsS, Bone K. Principles and Practice of Phytotherapy Modern Herbal Medicine. Edinburg: Churchill Livingstone.2000.
13. Ikalot. Pertumbuhan dan Perkembangan. Jurnal Pertumbuhan dan Perkembangan 2013;7:1-6.
14. Sumiwi SA, Zuhrotun A, Hendriani R, Rizal M, Levita J, Megantara S.

- Subchronic Toxicity of Ethanol Extract of. 2019;11(1):30-35. doi:10.18585/inabj.v11i1.458.
15. Harismah, K. dan Chusniatun, 2016. Pemanfaatan Daun Salam (*Eugenia polyantha*) Sebagai Obat Herbal Dan Rempah Penyedap Makanan. *Warta Lpm* , Pp. Vol .19 No. 2.Hal.110-118.
 16. Evendi A. Uji fitokimia dan anti bakteri ekstrak daun salam (*Syzygium polyanthum*) terhadap bakteri Salmonella typhi dan Escherichia coli secara In Vitro. *Mahakam Med Lab Technol J*. 2017;2(1).Hal.1-9
 17. Habibi AI, Firmansyah RA, Setyawati SM. Indonesian Journal of Chemical Science Skrining Fitokimia Ekstrak n - Heksan Korteks Batang Salam (*Syzygium polyanthum*). *Indones J Chem Sci*. 2018;7(1).Hal.1-4.
 18. Agustina R, Indrawati DT, Masruhin MA. Aktivitas ekstrak daun salam (*Eugenia polyantha*) sebagai antiinflamasi pada tikus putih (*Rattus Norvegicus*). *Lab Penelit dan Pengemb FARMAKA Trop Fak Farm Univ Mulawarman, Samarinda, Kalimantan Timur*. 2015.Hal.120-123.
 19. Ambari, Y. Uji aktivitas antidiare ekstrak etanol daun salam (*Eugenia polyantha Wight*) pada mencit putih (*Mus musculus*) jantan Galur BALB-C. *J Pharm Care Anwar Med*. 2018;1(1).
 20. Nurlaila, Donatus IA, Sugiyanto, Wahyono D, Suhardjono D. *Petunjuk Praktikum Toksikologi*, 1st ed. Yogyakarta: Laboratorium Farmakologi dan Toksikologi Fakultas Farmasi, Universitas Gajah Mada; 1992. hal.3-5, 16-30.
 21. Yusliani ER, Bachtiar BM, Suniarti DF, Sutiatmojo AB. *Effect of Rambutan Honey (Nephelium lappaceum) Acute Administration on Mortality, Body Weight, Toxicity Symptoms and Relative Organ Weight of Swiss Websters Mice*. *Res. J. Toxinns* 2015; 1.p.1-9.

