BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Jalannya Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi pengaruh fraksi ekstrak etanol, heksana, dan etil asetat daun mengkudu (*Morinda citrifolia*) terhadap perilaku tikus putih. Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Farmakologi Politeknik Kesehatan Kementerian Kesehatan Bengkulu, dan melibatkan tiga tahap: pra-penelitian, analitik, dan pasca-analitik.

Pada tahap analisis, peneliti memulai dengan menentukan judul penelitian, merumuskan masalah, dan menentukan tujuan penelitian. Setelah itu, peneliti mengurus surat izin prapenelitian, menyiapkan instrumen penelitian, mengikuti ujian proposal, dan mengurus surat izin penelitian. Setelah surat izin prapenelitian diperoleh, peneliti menentukan tanaman daun mengkudu di Laboratorium Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Bengkulu, kemudian dilanjutkan dengan proses maserasi. Selanjutnya, setelah surat izin penelitian terbit, peneliti mengurus surat izin lanjutan ke Dinas Penanaman Modal dan Pelayanan Terpadu Satu Pintu (DPMPTSP) Provinsi Bengkulu, kemudian ke Laboratorium Terpadu Poltekkes Kemenkes Bengkulu, dan terakhir mengurus surat izin penelitian ke Laboratorium Farmakologi Poltekkes Kemenkes Bengkulu.

Pada tahap analisis, penelitian diawali dengan preparasi daun mengkudu, dilanjutkan dengan maserasi, ekstraksi menggunakan rotary evaporator, dan fraksinasi. Selanjutnya, hewan uji menjalani tahap adaptasi di Laboratorium Farmakologi Politeknik Kesehatan Kementerian Kesehatan Bengkulu selama 7 hari. Setelah masa adaptasi, mencit ditimbang dan diberikan fraksi ekstrak etanol, heksana, dan etil asetat daun mengkudu selama 14 hari untuk mengevaluasi potensi efek toksik. Setelah semua hasil uji diperoleh, penelitian dilanjutkan ke tahap pascaanalisis, yang melibatkan analisis data

untuk menentukan apakah fraksi ekstrak etanol, heksana, dan etil asetat daun mengkudu (*Morinda citrifolia*) menghasilkan efek toksik terhadap perilaku mencit putih. Data penelitian disajikan dalam bentuk tabel dan dideskripsikan secara naratif.

Identifikasi tanaman dilakukan di Laboratorium Biologi Fakultas MIPA Universitas Bengkulu dengan menggunakan kunci determinasi dan disesuaikan dengan atlas tanaman Indonesia. Berdasarkan hasil identifikasi tersebut, tanaman yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun mengkudu yang termasuk dalam genus *Morinda* dan spesies *Morinda citrifolia*.

B. Hasil Penelitian

1. Karakteristik Hewan Uji

   a. Berat Badan Hewan Uji Sebelum dan Selama Pemberian Sediaan Fraksi Ekstrak Etanol, Heksan, Etil Asetat Daun Mengkudu dan Na CMC 1%

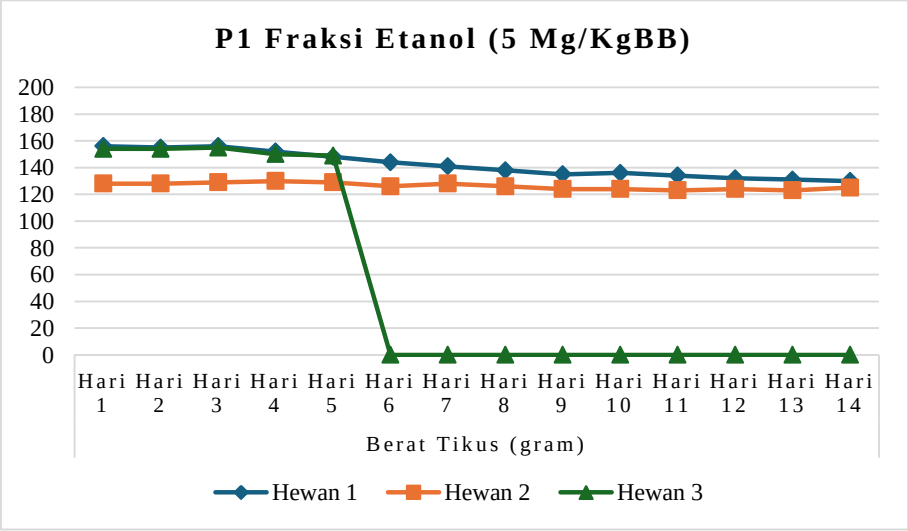
   Penelitian ini melibatkan 30 ekor tikus jantan yang dibagi menjadi 10 kelompok. Pengukuran berat badan dilakukan selama periode adaptasi 7 hari dan dilanjutkan selama periode pemberian 14 hari. Selain itu, laju pernapasan dan suhu tubuh juga diukur. Semua hasil pengamatan disajikan dalam bentuk tabel.

Tabel 4.1: Rata-rata berat badan tikus 7 hari sebelum perlakuan

Kelompok	Rata-rata berat tikus (gram)						
	Hari 1	Hari 2	Hari 3	Hari 4	Hari 5	Hari 6	Hari 7
P1	142,33	143	143	143	143,67	145,33	145,67
P2	147	146,33	147,67	147,67	148	147	147
P3	148,33	148	148,67	149,67	150,33	150,67	151,67

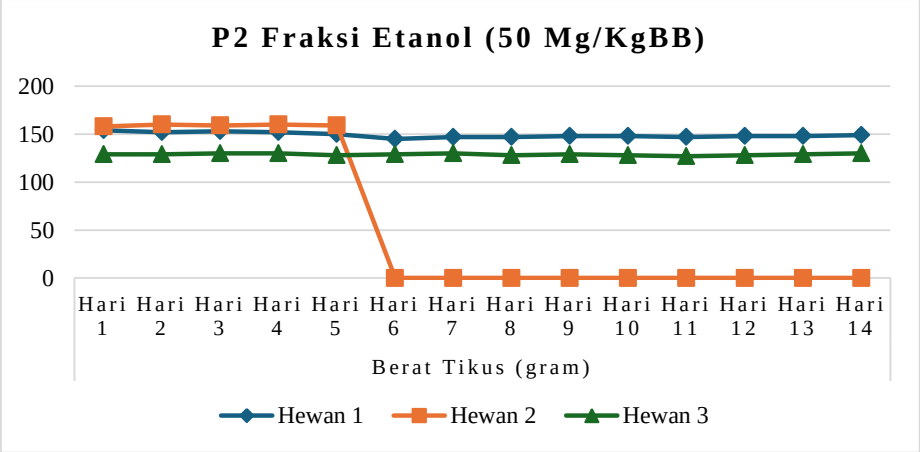
P4	147	147,33	147,67	148,67	148,67	149,33	150
P5	143	143,33	144	144,33	145,67	145,67	146,33
P6	137,33	137,33	137,67	137,67	137,33	136,33	135,67
P7	149,33	150,33	150,33	151,33	151	150	149,67
P8	129,33	129,33	129	129	128,67	129,67	130
P9	147,67	148,33	149,33	149,00	150,67	150,33	150,67
P10	118,33	118	119	120	120,67	121	120,67

Berdasarkan data pada tabel rata-rata berat badan tikus selama masa adaptasi 7 hari sebelum perlakuan, diketahui ada beberapa kelompok yang mengalami sedikit peningkatan maupun penurunan berat badan.



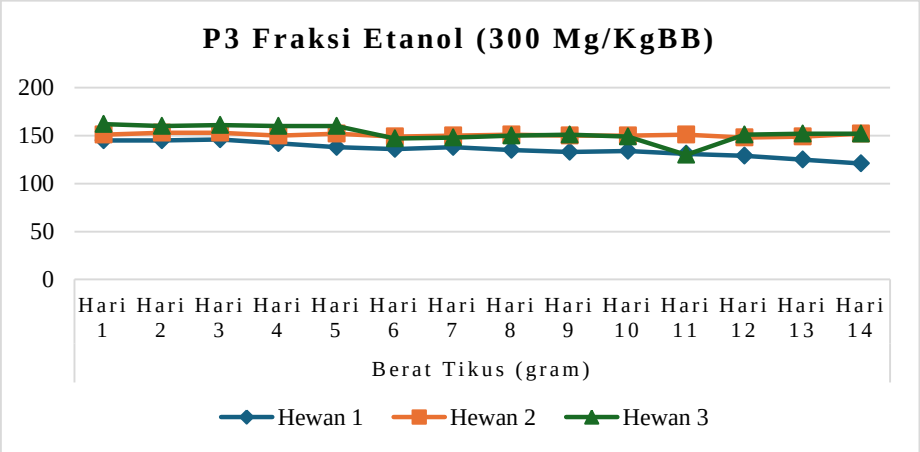
Grafik 4.1: Pengamatan bobot tikus pada dosis fraksi etanol 5 mg/kgBB

Pada data grafik pengamatan bobot tikus pada dosis fraksi etanol 5 mg/kgBB selama 14 hari perlakuan. Didapatkan penurunan berat badan tikus yang signifikan dan tikus ke 3 mengalami kematian di hari ke 6.



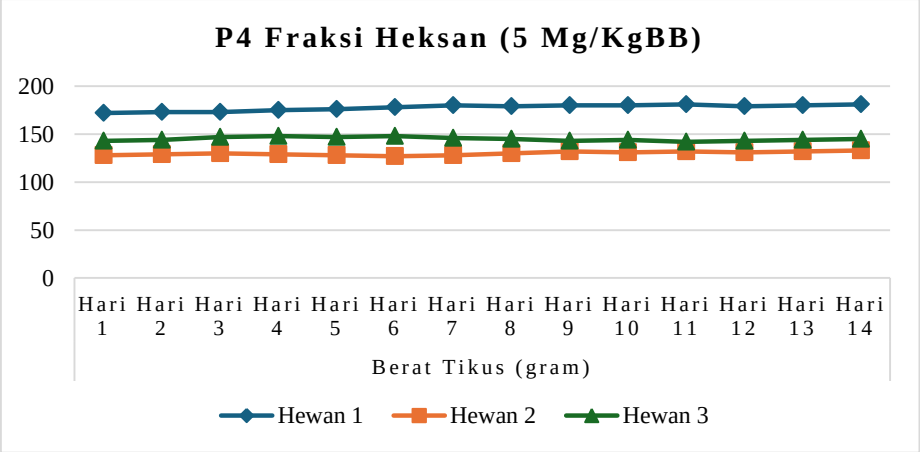
Grafik 4.2: Pengamatan bobot badan tikus dosis fraksi etanol 50 mg/kgBB

Pada data grafik pengamatan bobot tikus pada dosis fraksi etanol 50 mg/kgBB selama 14 hari perlakuan. Didapatkan tikus nomor 2 mengalami kematian di hari ke 6 perlakuan.



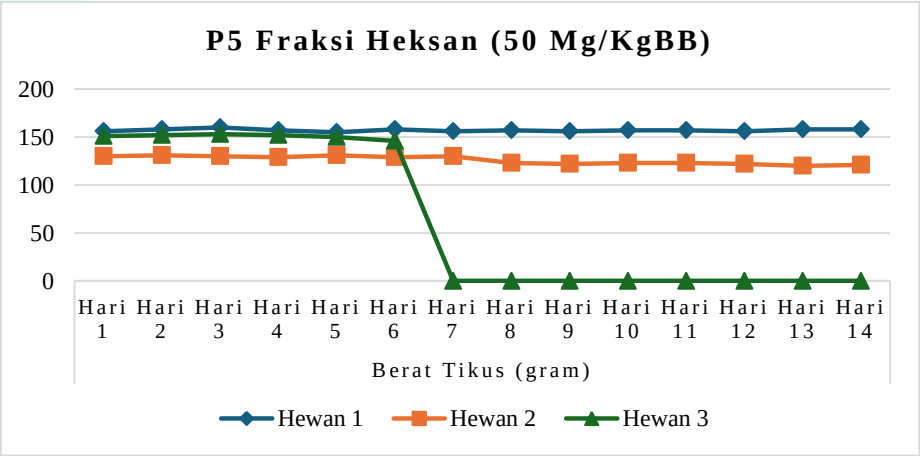
Grafik 4.3: Pengamatan bobot badan tikus dosis fraksi etanol 300 mg/kgBB

Berdasarkan grafik pengamatan bobot tikus pada pemberian dosis fraksi etanol 300 mg/kgBB selama 14 hari perlakuan, terlihat bahwa tikus mengalami fluktuasi berat badan berupa penurunan maupun kenaikan.



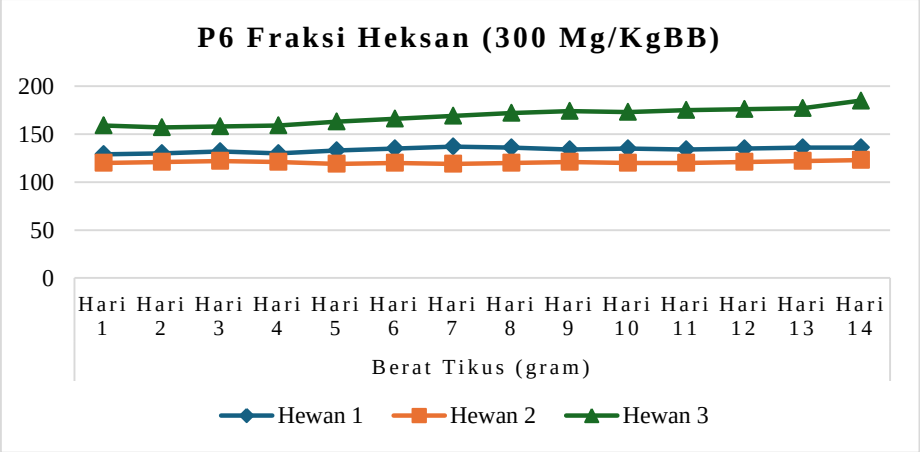
Grafik 4.4: Pengamatan bobot badan tikus dosis fraksi heksan 5 mg/kgBB

Berdasarkan grafik pengamatan bobot tikus pada pemberian dosis fraksi heksan 5 mg/kgBB selama 14 hari perlakuan, terlihat bahwa tikus mengalami fluktuasi berat badan berupa penurunan maupun kenaikan.



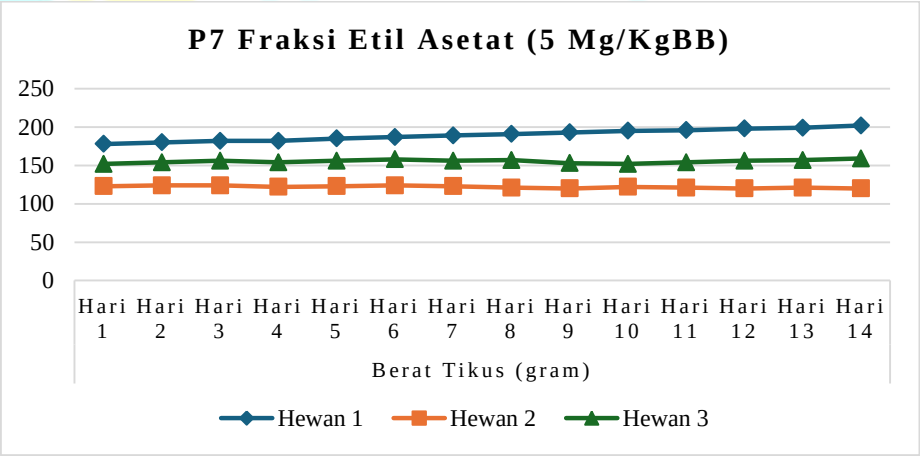
Grafik 4.5: Pengamatan bobot badan tikus dosis fraksi heksan 50 mg/kgBB

Pada data grafik pengamatan bobot tikus pada dosis fraksi heksan 50 mg/kgBB selama 14 hari perlakuan. Tikus nomor 3 tercatat mengalami kematian pada hari ke 7 perlakuan, serta menunjukkan fluktasi berat badan berupa penurunan dan kenaikan sebelum kematian.



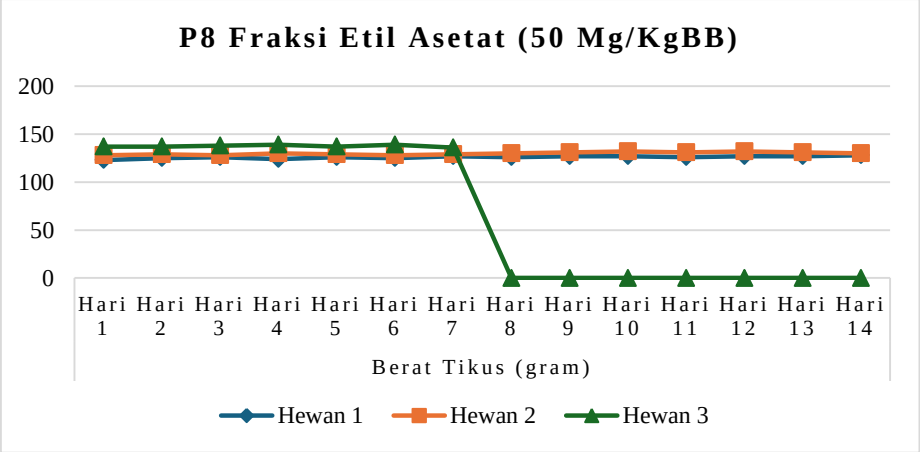
Grafik 4.6: Pengamatan bobot badan tikus dosis fraksi heksan 300 mg/kgBB

Pada data grafik pengamatan bobot tikus pada dosis fraksi heksan 300 mg/kgBB selama 14 hari perlakuan. Didapatkan tikus nomor 3 mengalami kenaikan berat badan yang signifikan dan kenaikan penurunan berat badan pada tikus lain.



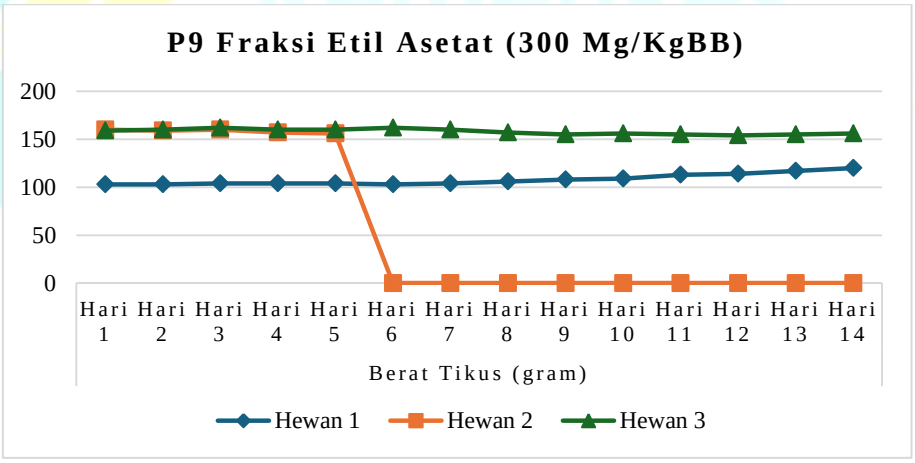
Grafik 4.7: Pengamatan bobot badan tikus dosis fraksi etil asetat 5 mg/kgBB

Pada data grafik pengamatan bobot tikus pada dosis fraksi etil asetat 5 mg/kgBB selama 14 hari perlakuan, serta menunjukkan fluktasi berat badan berupa penurunan dan kenaikan sebelum kematian.



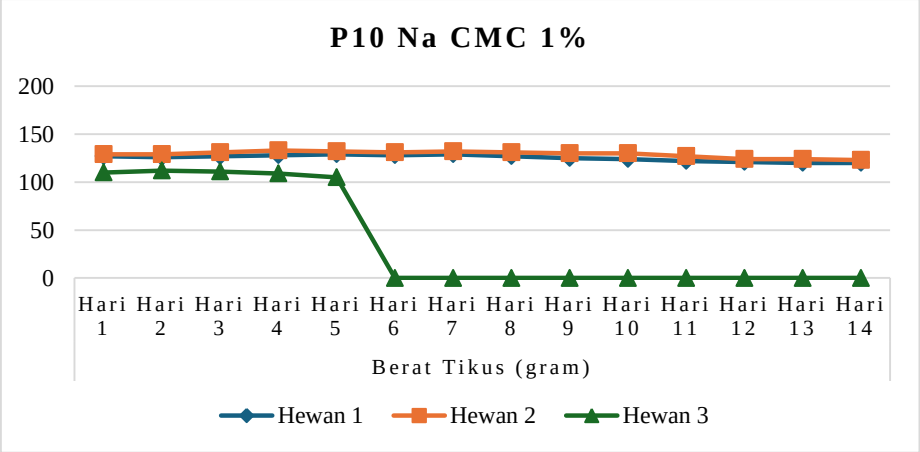
Grafik 4.8: Pengamatan bobot badan tikus dosis fraksi etil asetat 50 mg/kgBB

Pada data grafik pengamatan bobot tikus pada dosis fraksi etil asetat 50 mg/kgBB selama 14 hari perlakuan. Didapatkan tikus nomor 3 mengalami kematian dihari ke 8 perlakuan dan tikus lain berat badan stabil sampai hari ke 14 perlakuan.



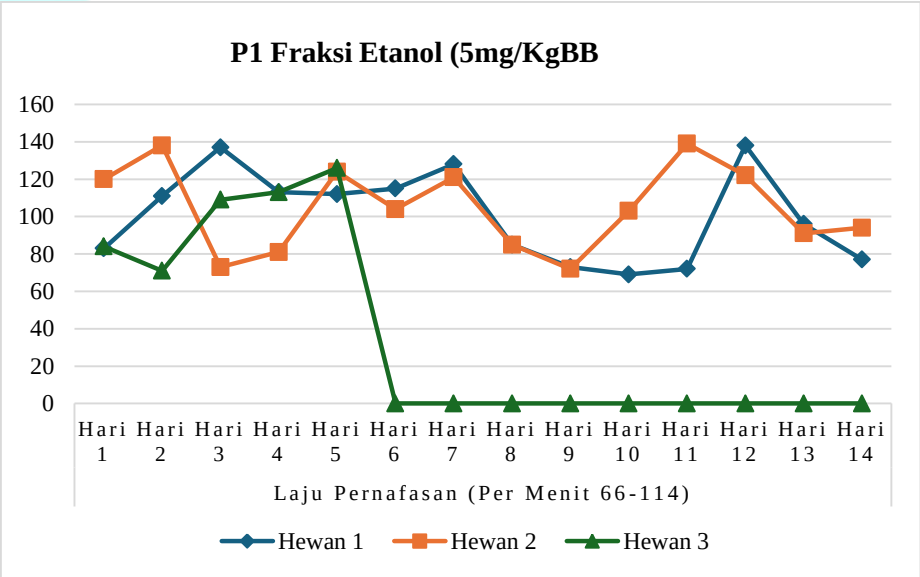
Grafik 4.9: Pengamatan bobot badan tikus dosis fraksi etil asetat 300 mg/kgBB

Pada data grafik pengamatan bobot tikus pada dosis fraksi etil asetat 300 mg/kgBB selama 14 hari perlakuan. Didapatkan tikus nomor 2 mengalami kematian dihari ke 6 perlakuan dan tikus lain mengalami penurunan kenaikan berat badan.



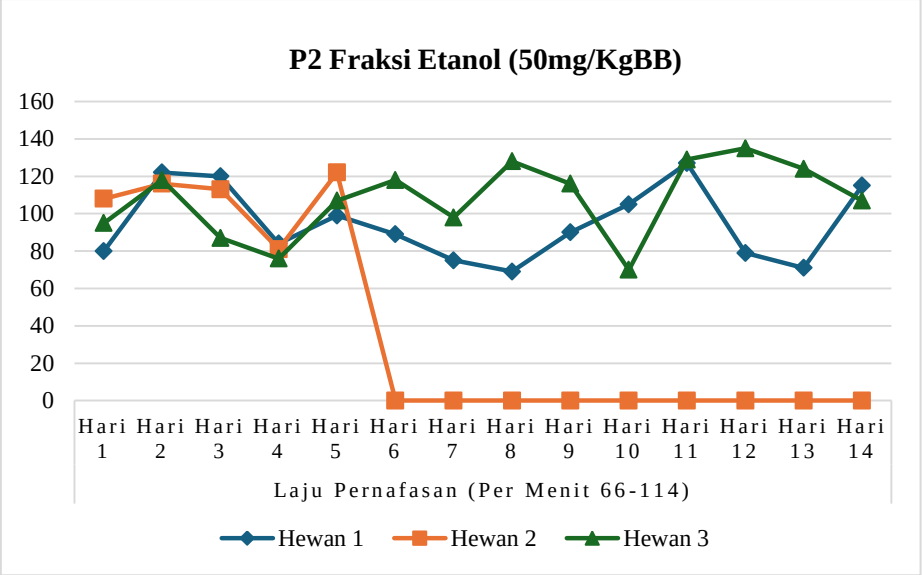
Grafik 4.10: Pengamatan bobot badan tikus dosis Na CMC 1%

Pada data grafik pengamatan bobot tikus pada dosis Na CMC 1% selama 14 hari perlakuan. Didapatkan tikus nomor 3 mengalami kematian dihari ke 6 perlakuan dan tikus lain mengalami penurunan berat badan.



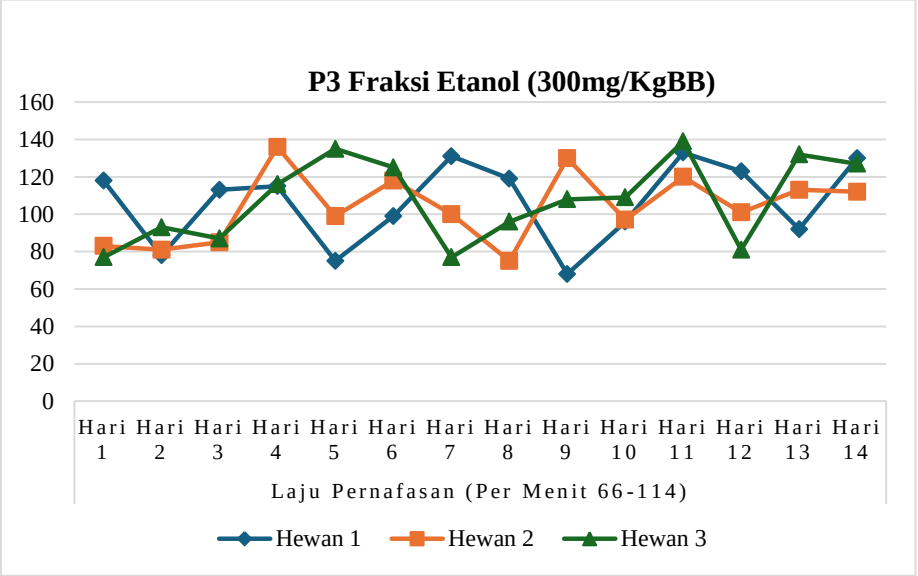
Grafik 4.11: Pengamatan laju pernafasan tikus dosis fraksi etanol 5 mg/KgBB

Pada data grafik pengamatan laju pernafasan tikus dosis fraksi etanol 5 mg/KgBB mengalami kenaikan dan penurunan yang signifikan dan tikus ke 3 mengalami kematian dihari ke 6.



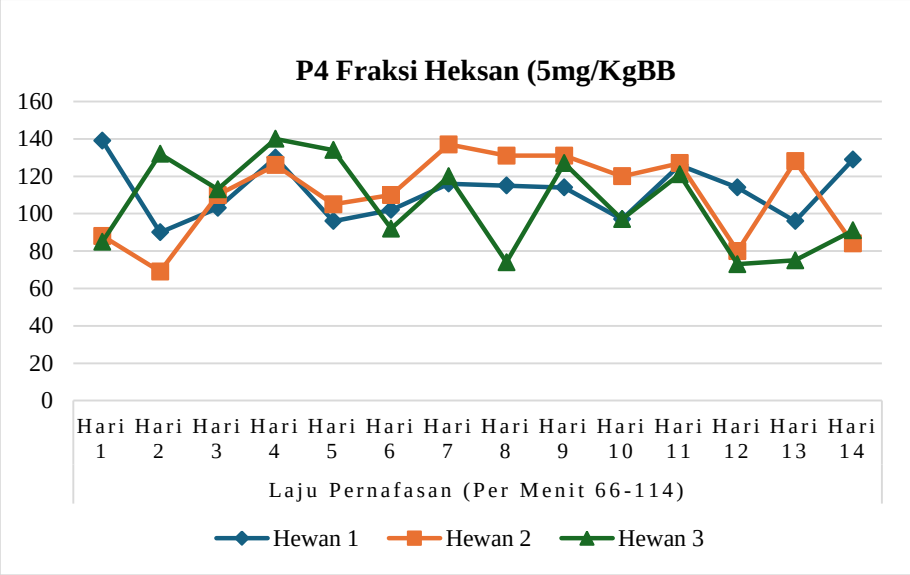
Grafik 4.12: Pengamatan laju pernafasan tikus dosis fraksi etanol 50 mg/KgBB

Pada data grafik pengamatan laju pernafasan tikus dosis fraksi etanol 50 mg/KgBB mengalami kenaikan dan penurunan yang signifikan dan tikus ke 2 mengalami kematian dihari ke 6.



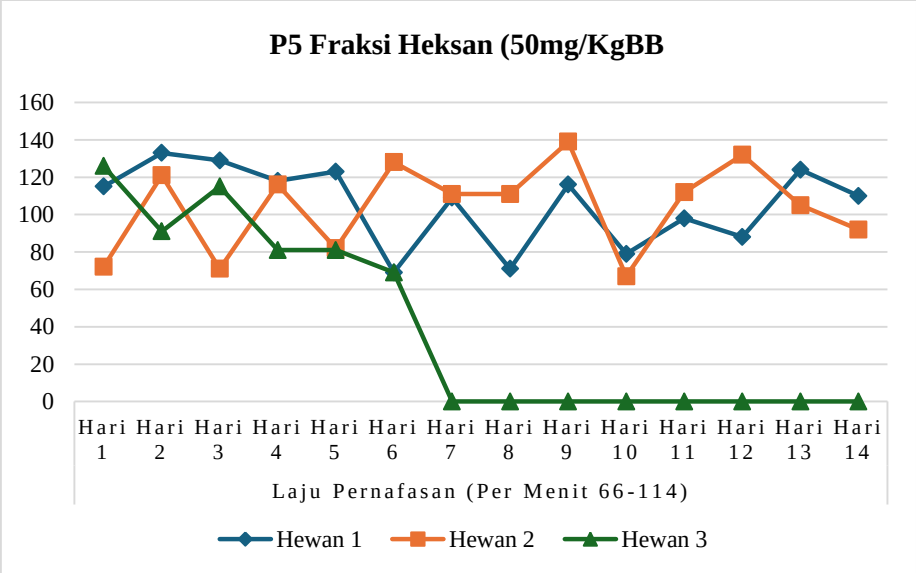
Grafik 4.13: Pengamatan laju pernafasan tikus dosis fraksi etanol 300 mg/KgBB

Pada data grafik pengamatan laju pernafasan tikus dosis fraksi etanol 300 mg/KgBB mengalami kenaikan dan penurunan yang signifikan.



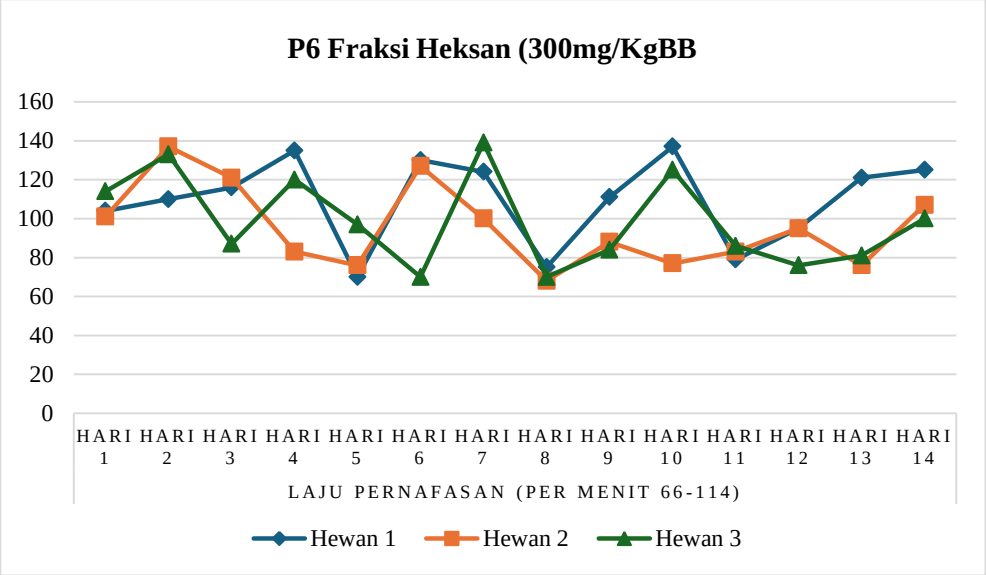
Grafik 4.14: Pengamatan laju pernafasan tikus dosis fraksi heksan 5 mg/KgBB

Pada data grafik pengamatan laju pernafasan tikus dosis fraksi heksan 5 mg/KgBB mengalami kenaikan dan penurunan yang signifikan.



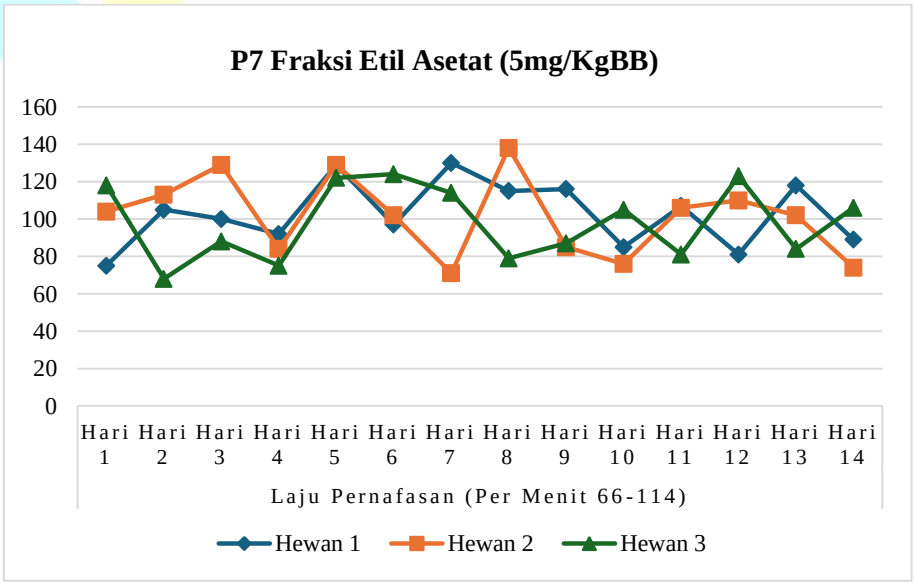
Grafik 4.15: Pengamatan laju pernafasan tikus dosis fraksi heksan 50 mg/KgBB

Pada data grafik pengamatan laju pernafasan tikus dosis fraksi heksan 50 mg/KgBB mengalami kenaikan dan penurunan yang signifikan dan tikus ke 1 mengalami kematian di hari ke 7.



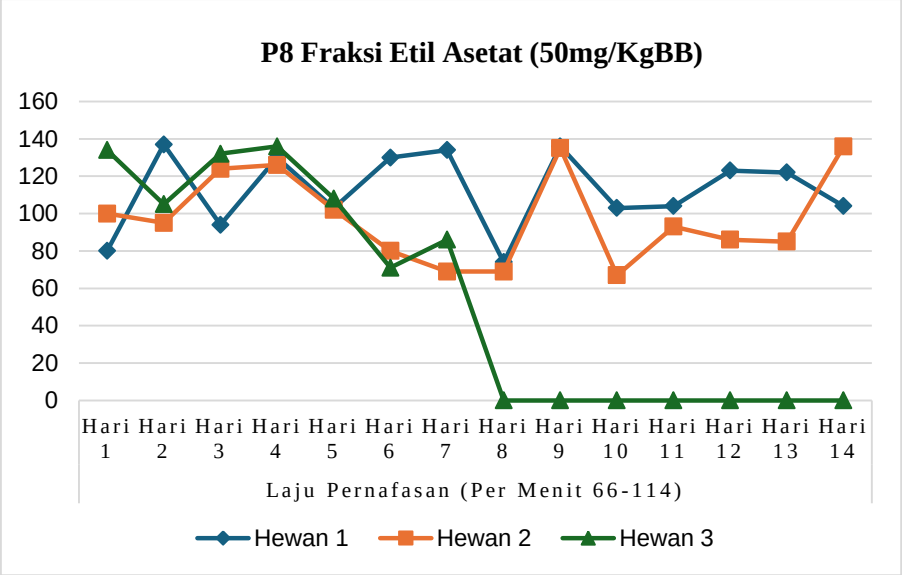
Grafik 4.16: Pengamatan laju pernafasan tikus dosis fraksi heksan 300 mg/KgBB

Pada data grafik pengamatan laju pernafasan tikus dosis fraksi heksan 300 mg/KgBB mengalami kenaikan dan penurunan.



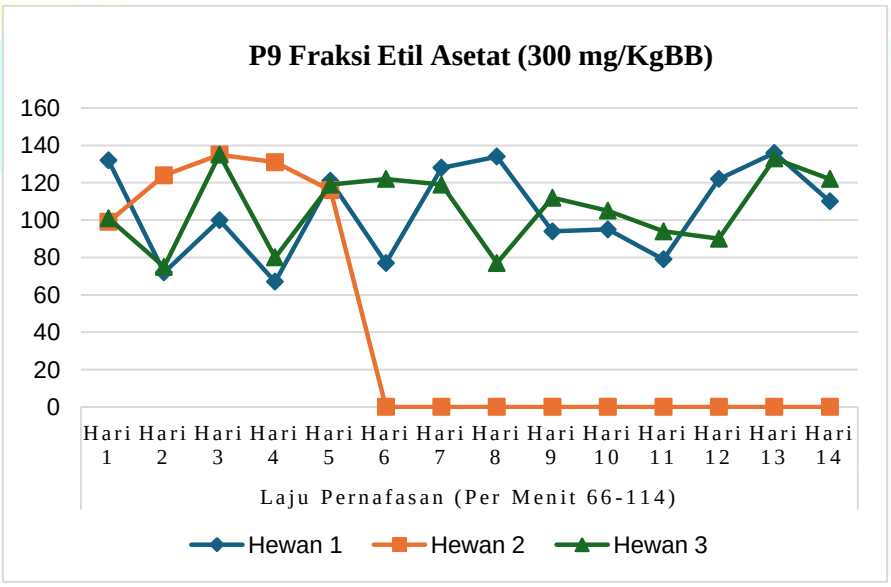
Grafik 4.17: Pengamatan laju pernafasan tikus dosis fraksi etil asetat 5 mg/KgBB

Pada data grafik pengamatan laju pernafasan tikus dosis fraksi etil asetat 5 mg/KgBB mengalami kenaikan dan penurunan.



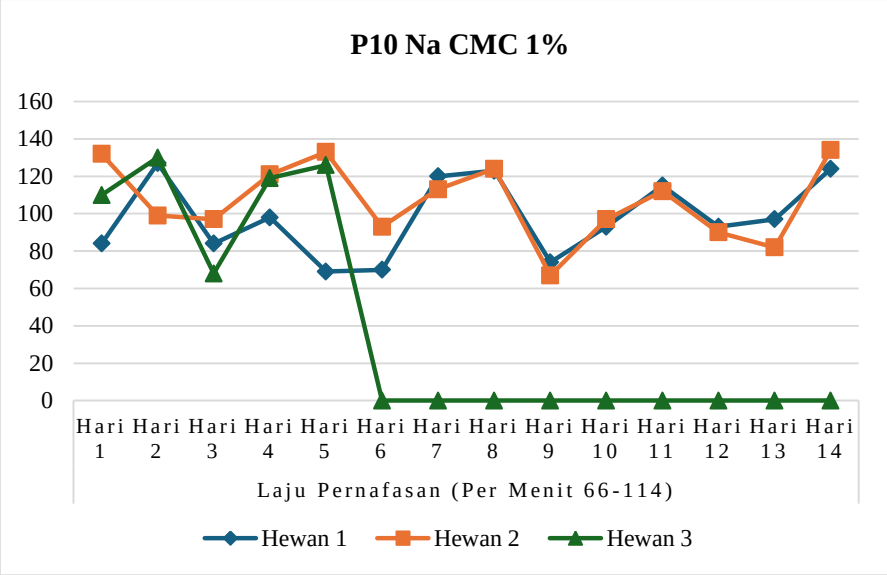
Grafik 4.18: Pengamatan laju pernafasan tikus dosis fraksi etil asetat 50 mg/KgBB

Pada data grafik pengamatan laju pernafasan tikus dosis fraksi etil asetat 50 mg/KgBB mengalami kenaikan dan penurunan. Dan kematian pada tikus ke 3 di hari ke 8 perlakuan.



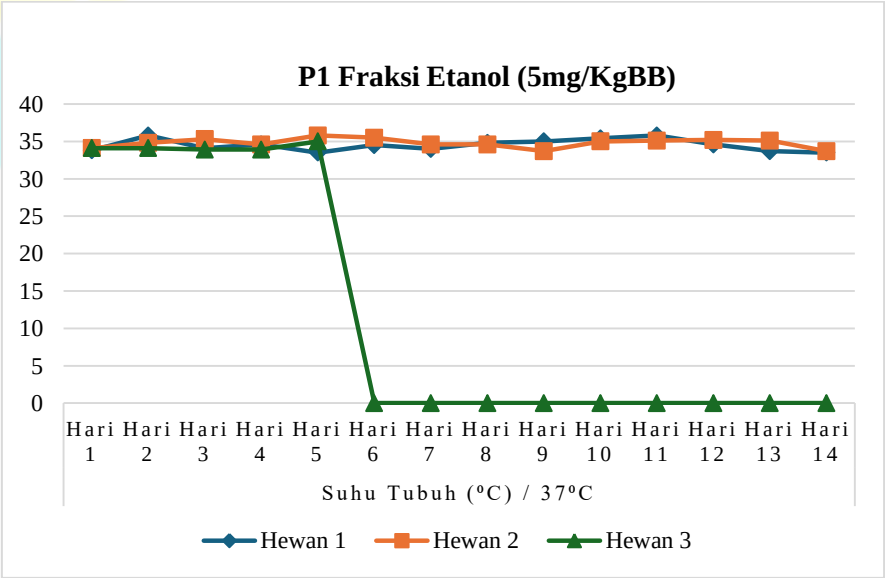
Grafik 4.19: Pengamatan laju pernafasan tikus dosis fraksi etil asetat 300 mg/KgBB

Pada data grafik pengamatan laju pernafasan tikus dosis fraksi etil asetat 300 mg/KgBB mengalami kenaikan dan penurunan. Dan kematian pada tikus ke 2 di hari ke 6 perlakuan.



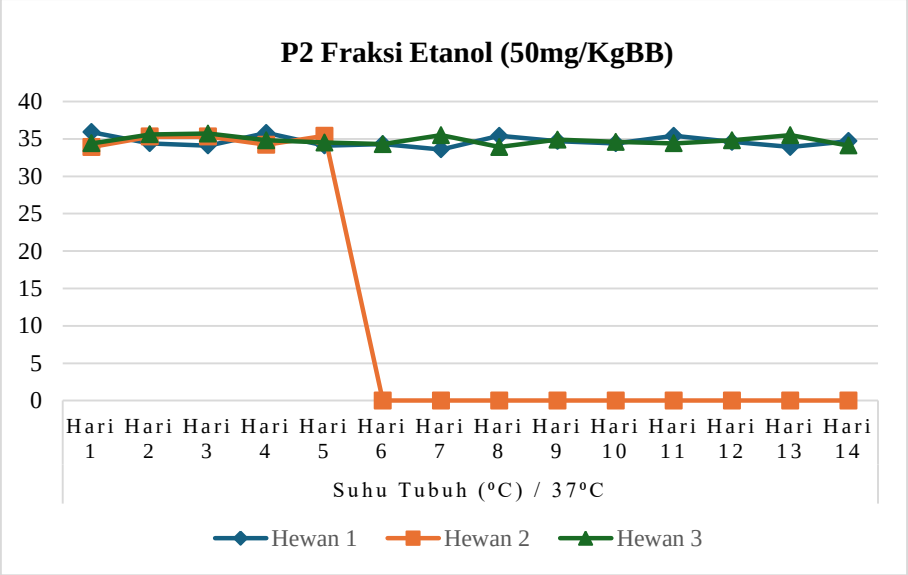
Grafik 4.20: Pengamatan laju pernafasan tikus dosis Na CMC 1%

Pada data grafik pengamatan laju pernafasan tikus dosis Na CMC 1% mengalami kenaikan dan penurunan. Dan kematian pada tikus ke 3 di hari ke 6 perlakuan.



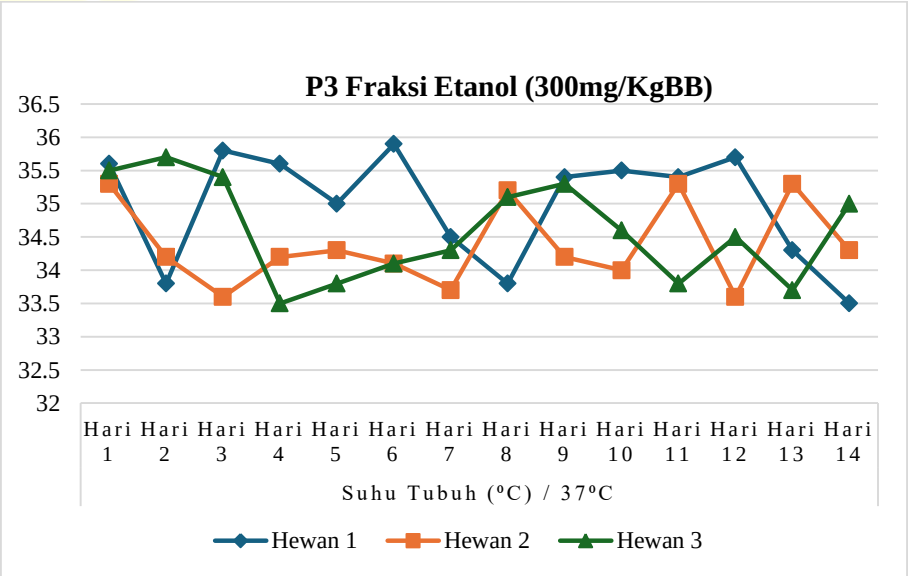
Grafik 4.21: Pengamatan suhu tubuh tikus dosis fraksi etanol 5 mg/KgBB

Pada data grafik pengamatan suhu tubuh tikus dosis fraksi etanol 5 mg/KgBB mengalami kenaikan dan penurunan. Dan kematian pada tikus ke 3 di hari ke 6 perlakuan.



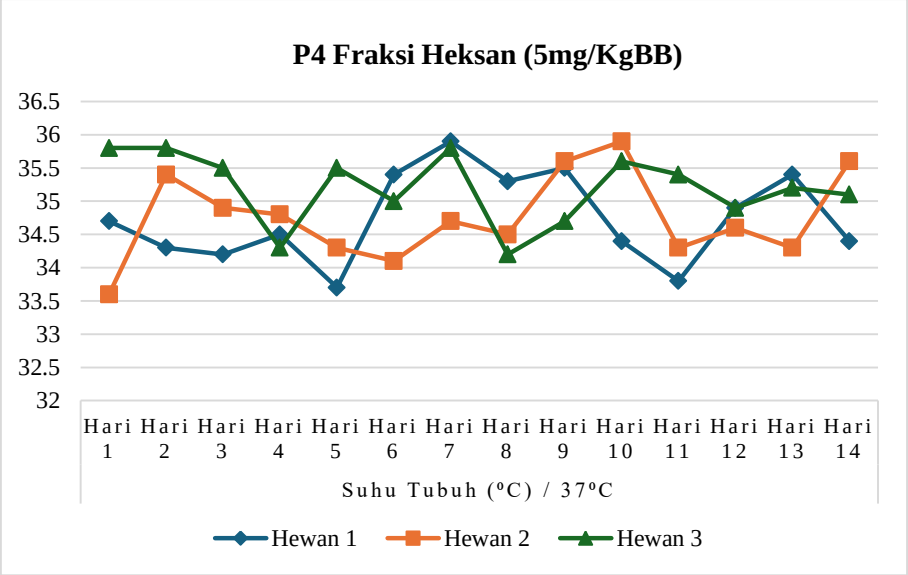
Grafik 4.22: Pengamatan suhu tubuh tikus dosis fraksi etanol 50 mg/KgBB

Pada data grafik pengamatan suhu tubuh tikus dosis fraksi etanol 50 mg/KgBB mengalami kenaikan dan penurunan. Dan kematian pada tikus ke 2 di hari ke 6 perlakuan.



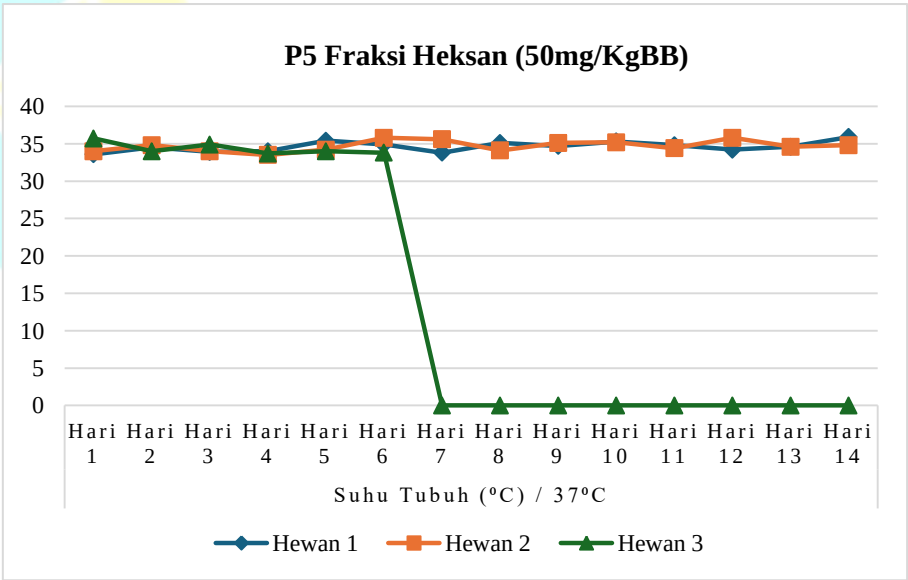
Grafik 4.23: Pengamatan suhu tubuh tikus dosis fraksi etanol 300 mg/KgBB

Pada data grafik pengamatan suhu tubuh tikus dosis fraksi etanol 300 mg/KgBB mengalami kenaikan dan penurunan.



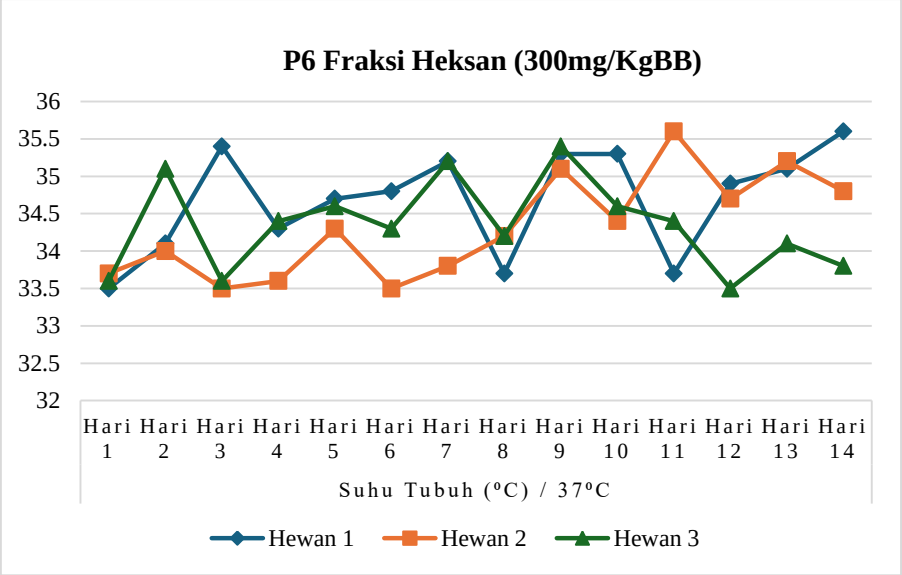
Grafik 4.24: Pengamatan suhu tubuh tikus dosis fraksi heksan 5 mg/KgBB

Pada data grafik pengamatan suhu tubuh tikus dosis fraksi heksan 5 mg/KgBB mengalami kenaikan dan penurunan.



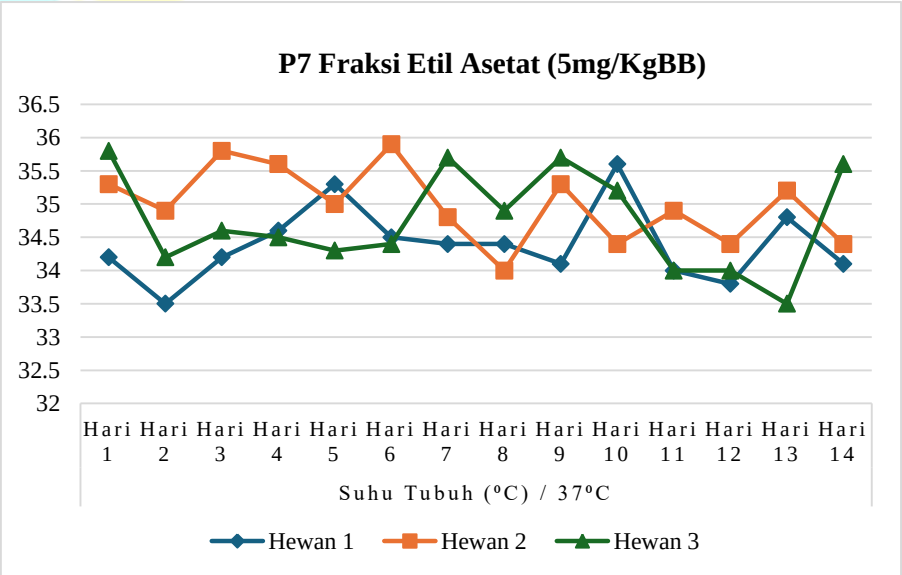
Grafik 4.25: Pengamatan suhu tubuh tikus dosis fraksi heksan 50 mg/KgBB

Pada data grafik pengamatan suhu tubuh tikus dosis fraksi heksan 50 mg/KgBB mengalami kenaikan dan penurunan. Dan kematian pada tikus ke 3 di hari ke 6 perlakuan.



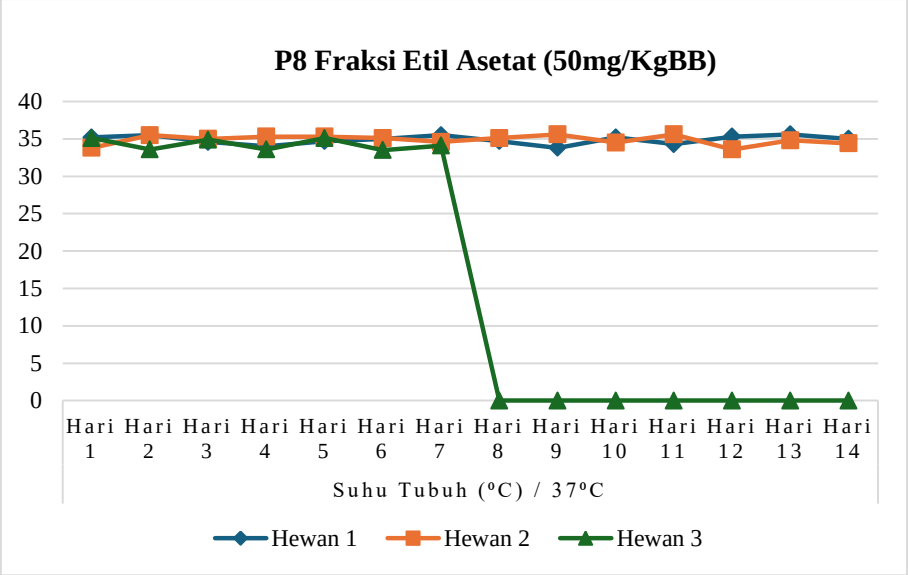
Grafik 4.26: Pengamatan suhu tubuh tikus dosis fraksi heksan 300 mg/KgBB

Pada data grafik pengamatan suhu tubuh tikus dosis fraksi heksan 300 mg/KgBB mengalami kenaikan dan penurunan.



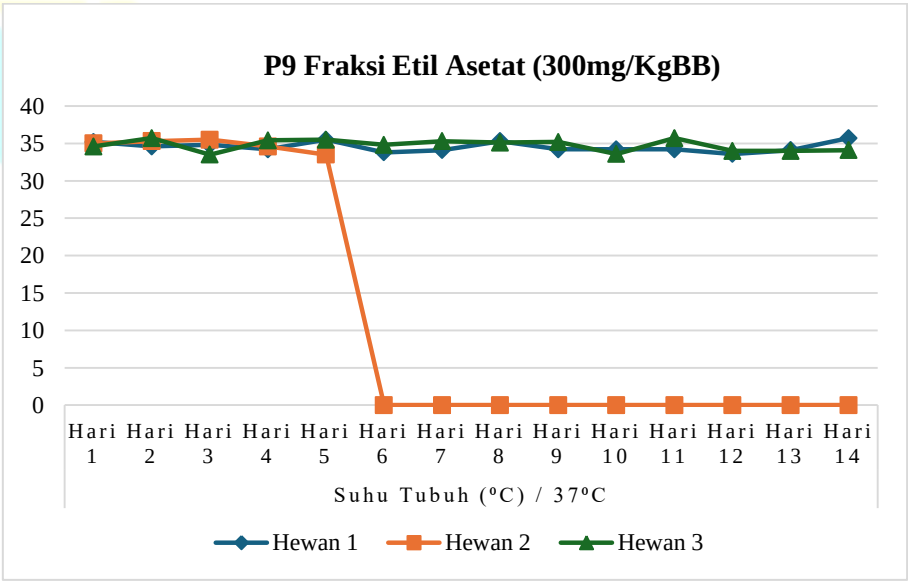
Grafik 4.27: Pengamatan suhu tubuh tikus dosis fraksi etil asetat 5 mg/KgBB

Pada data grafik pengamatan suhu tubuh tikus dosis fraksi etil asetat 5 mg/KgBB mengalami kenaikan dan penurunan.



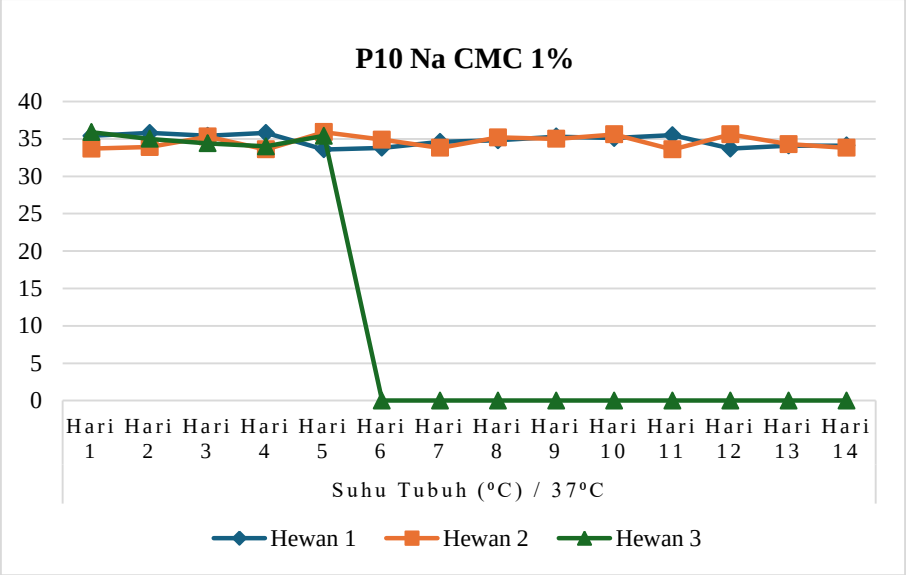
Grafik 4.28: Pengamatan suhu tubuh tikus dosis fraksi etil asetat 50 mg/KgBB

Pada data grafik pengamatan suhu tubuh tikus dosis fraksi etil asetat 50 mg/KgBB mengalami kenaikan dan penurunan. Dan kematian pada tikus ke 3 di hari ke 6 perlakuan.



Grafik 4.29: Pengamatan suhu tubuh tikus dosis fraksi etil asetat 300 mg/KgBB

Pada data grafik pengamatan suhu tubuh tikus dosis fraksi etil asetat 300 mg/KgBB mengalami kenaikan dan penurunan. Dan kematian pada tikus ke 2 di hari ke 6 perlakuan.



Grafik 4.30: Pengamatan suhu tubuh tikus dosis Na CMC 1%

Pada data grafik pengamatan suhu tubuh tikus dosis Na CMC 1% mengalami kenaikan dan penurunan. Dan kematian pada tikus ke 2 di hari ke 6 perlakuan.

b. Efek Toksisitas yang di Timbulkan Selama Pemberian

Tabel 4.2: Gejala toksik yang muncul pada hewan uji setelah pemberian fraksi ekstrak etanol, heksan dan etil asetat

Kelompok		Gejala Toksik								
		Laju Pernafasan	Suhu (C°)	Lemas	Kerontokan Rambut	Gemetar	Alergi	Gelisah	Makan	Tidur
P1	H1	√	√	√				√	√	√
	H2	√	√	√				√	√	√
	H3	√	√	√		√			√	√
P2	H1	√	√	√				√	√	√
	H2	√	√	√					√	√
	H3	√	√	√				√	√	√
P3	H1	√	√	√				√	√	√
	H2	√	√	√				√	√	√
	H3	√	√	√				√	√	√
P4	H1	√	√	√					√	√
	H2	√	√	√				√	√	√
	H3	√	√	√				√	√	√
P5	H1	√	√	√				√	√	√
	H2	√	√	√		√		√	√	√
	H3	√	√	√		√			√	√
P6	H1	√	√	√				√	√	√
	H2	√	√	√				√	√	√
	H3	√	√	√				√	√	√
P7	H1	√	√	√				√	√	√
	H2	√	√	√					√	√
	H3	√	√	√				√	√	√
P8	H1	√	√	√		√		√	√	√
	H2	√	√	√					√	√
	H3	√	√	√				√	√	√

P9	H1	√	√	√				√	√
	H2	√	√	√	√			√	√
	H3	√	√	√		√	√	√	
P10	H1	√	√	√		√	√	√	
	H2	√	√	√		√	√	√	
	H3	√	√	√	√	√	√	√	

Tabel 4.3: Jumlah pada tikus dalam

c. Jumlah kematian pada tikus setelah pemberian dosis tunggal fraksi ekstrak etanol, heksan dan etil asetat daun mengkudu

24 jam setelah pemberiaan dosis tunggal fraksi ekstrak etanol, heksan dan etil asetat daun mengkudu

Kelompok	Perlakuan	Jumlah Hewan	Jumlah Kematian
P1	Fraksi ekstrak etanol daun mengkudu 5 mg/kgbb	3	1
P2	Fraksi ekstrak etanol daun mengkudu 50 mg/kgbb	3	1
P3	Fraksi ekstrak etanol daun mengkudu 300 mg/kgbb	3	0
P4	Fraksi ekstrak heksan daun mengkudu 5 mg/kgbb	3	0
P5	Fraksi ekstrak heksan daun mengkudu 50 mg/kgbb	3	1
P6	Fraksi ekstrak heksan daun mengkudu 300 mg/kgbb	3	0
P7	Fraksi ekstrak etil asetat daun mengkudu 5 mg/kgbb	3	0
P8	Fraksi ekstrak etil asetat daun mengkudu 50 mg/kgbb	3	1
P9	Fraksi ekstrak etil asetat daun mengkudu 300 mg/kgbb	3	1
P10 (Kontrol Negatif)	Na CMC 1%	3	1

C. Pembahasan

Penelitian ini menggunakan tikus jantan dengan berat antara 100 dan 250 gram, dengan variasi berat tidak lebih dari 20%, dan berusia sekitar 6 hingga 8 minggu (BPOM RI, 2022). Pemilihan tikus jantan dilakukan karena tikus jantan cenderung memberikan hasil yang lebih konsisten, mengingat mereka tidak terpengaruh oleh siklus estrus atau potensi kehamilan seperti pada tikus betina.

Uji toksisitas akut dilakukan untuk mengevaluasi tingkat efek toksik yang terjadi setelah pemberian dosis tunggal suatu senyawa dalam waktu 24 jam. Dalam penelitian ini, hewan uji dibagi secara acak menjadi beberapa kelompok. Selama fase adaptasi, mencit dibagi menjadi empat kelompok: satu kelompok kontrol negatif dan sembilan kelompok perlakuan, dengan masing-masing kelompok berisi tiga mencit yang ditempatkan dalam empat kandang berukuran sama. Sesuai standar laboratorium untuk perawatan hewan uji, ruangan percobaan harus memenuhi tingkat suhu, kelembapan, pencahayaan, dan kebisingan yang sesuai untuk kelangsungan hidup mencit. Suhu dijaga pada 22 ± 3°C, dengan kelembapan relatif 30–70%, dan siklus pencahayaan 12 jam terang dan 12 jam gelap. Selain itu, ruangan harus dijaga kebersihannya. (BPOM, 2022).

Hewan uji diadaptasi terlebih dahulu selama 7 hari, kemudian ditimbang dan dicatat pada hari ke-8. Rata-rata berat badan hewan uji selama masa adaptasi ditunjukkan pada Gambar 1. Berdasarkan Gambar 1, tampak bahwa semua kelompok mengalami penurunan berat badan, yang kemungkinan besar disebabkan oleh jenis pakan yang diberikan, yaitu pelet.

Dalam penelitian ini, sediaan uji diberikan secara oral kepada tikus menggunakan tabung, dengan dosis yang disesuaikan berdasarkan berat badan masing-masing hewan uji. Rute pemberian oral dipilih karena memudahkan tikus untuk menelan sediaan uji. (Sudisma et al., 2023). Setelah masa adaptasi selama 7 hari, tikus ditimbang pada hari ke-

8, kemudian ditimbang setiap pagi hingga hari ke-21 sebelum diberikan fraksi ekstrak etanol, heksana, dan etil asetat daun mengkudu pada kelompok perlakuan.

Berdasarkan hasil pengamatan pada Tabel 4.1, semua kelompok menunjukkan gejala toksik seperti lemas, perubahan frekuensi pernapasan, suhu tubuh, dan gelisah. Gejala toksik yang lebih nyata, seperti tremor otot (gemetar), terlihat pada kelompok P1, P2, P5, P8, P9, dan P10. Sementara itu, selama masa perlakuan, kelompok P4, P5, P6, P7, dan P9 mengalami kenaikan berat badan, sedangkan kelompok P1, P2, P3, dan P10 mengalami penurunan berat badan.

Uji LD_{50} pada fraksi ekstrak etanol, heksana, dan etil asetat daun mengkudu dilakukan untuk menentukan dosis awal terjadinya efek toksik. Efek toksik ini ditandai dengan kematian mencit yang telah diberi fraksi uji, dengan pengamatan awal selama 6 jam untuk mendeteksi gejala toksisitas, kemudian dilanjutkan setiap 24 jam selama 14 hari untuk memantau mortalitas. Berdasarkan Tabel 4.2, diketahui bahwa pada kelompok P10, meskipun tidak diberi fraksi ekstrak etanol, heksana, maupun etil asetat, juga terjadi kematian. Sementara itu, masing-masing satu mencit pada kelompok P1, P2, P5, P8, dan P9 juga tercatat mengalami kematian.

Dosis tertinggi yang diberikan, 300 mg/kg berat badan ekstrak etil asetat, dianggap toksik berdasarkan klasifikasi toksisitas Hodge dan Sterner. Sementara itu, dosis terendah yang diberikan, 5 mg/kg berat badan ekstrak etanol, dianggap sangat toksik berdasarkan skala klasifikasi yang sama. (BPOM, 2020).

Hasil uji toksisitas terhadap fraksi ekstrak etanol, heksan, dan etil asetat daun mengkudu menunjukkan bahwa tidak ditemukan dosis letal (LD50) pada masing-masing fraksi, karena jumlah kematian pada setiap kelompok tidak melebihi setengah dari total populasi. Pada pemberian dosis fraksi ekstrak etanol 50 mg/kgBB, tercatat kematian

sebanyak 1 ekor dari 3 hewan uji. Hal serupa juga terjadi pada dosis fraksi ekstrak heksan 50 mg/kgBB serta fraksi ekstrak etil asetat 50 mg/kgBB, yang masing-masing menyebabkan kematian 1 ekor dari 3 hewan uji. Selain itu, pada dosis fraksi ekstrak etil asetat 300 mg/kgBB juga ditemukan kematian 1 dari 3 hewan uji. Bahkan pada dosis terendah, yaitu 5 mg/kgBB, juga tercatat kematian 1 dari 3 hewan uji.

Kematian hewan uji selama masa pengamatan 14 hari tidak semata-mata disebabkan oleh pemberian fraksi ekstrak etanol, heksana, dan etil asetat, tetapi dipengaruhi oleh berbagai faktor lainnya. Salah satu faktornya adalah jenis pakan yang diberikan. Sejak hari pertama adaptasi hingga hari ketiga perlakuan, mencit hanya diberi pakan pelet sehingga menyebabkan penurunan berat badan yang cukup signifikan. Setelah hari keempat hingga hari ke-14 perlakuan, pakan diganti dengan jagung sehingga berat badan mencit mulai meningkat. Selain itu, kondisi lingkungan juga turut berperan, seperti fluktuasi suhu ruangan di Laboratorium Farmakologi yang terkadang melebihi 30°C pada fase adaptasi dan perlakuan, sehingga turut mempengaruhi kondisi fisiologis tikus.