

BAB I

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Pemakaian obat tradisional untuk mempertahankan kesehatan masyarakat telah lama diketahui. Bahkan sampai sekarang 80% masyarakat di dunia masih menggunakan pengobatan tradisional (BPOM, 2014). Obat tradisional merupakan bahan yang berasal dari tumbuh tumbuhan, hewan, mineral maupun sediaan sarian (galenik) atau campuran dari bahan yang secara turun menurun digunakan sebagai pengobatan (BPOM, 2014). Saat ini semakin banyak masyarakat yang menggunakan bahan alam sebagai obat tradisional maka diperlukannya penelitian lebih mendalam bagaimana khasiat dan keamanan dari obat tersebut (Depkes RI, 2000).

Obat tradisional sudah banyak dimanfaatkan sejak lama dan merupakan warisan budaya bangsa hingga perlu pengembangan dan penelitian lebih lanjut. Penelitian tentang obat tradisional meliputi penelitian analisis kandungan kimia, toksisitas, farmakodinamik, formulasi dan uji klinik (Dewoto, 2007). Penelitian tentang khasiat maupun keamanan dari obat tradisional berkembang semakin pesat. Selain mempunyai banyak khasiat salah satunya sebagai obat alternatif obat tradisional juga mempunyai ketoksikannya (Aswin *et al.*, 2016). Efek toksik didalam makhluk hidup ini terjadi ketika dosis yang diserap relatif kecil tetapi terdapat kerusakan pada sel (Eriadi, A., 2016).

Salah satu khasiat dari obat tradisional yaitu sebagai obat penurun demam atau biasa disebut antipiretik. Demam merupakan bentuk dari mekanisme pertahanan tubuh terhadap paparan penyakit dimana kondisi suhu tubuh lebih tinggi daripada biasanya atau mengalami peningkatan dari suhu normal. Suhu tubuh dikatakan normal antara 36,1 sampai 37,7°C. Peningkatan suhu tubuh mengakibatkan dehidrasi, kekurangan oksigen, kerusakan saraf, rasa tidak nyaman seperti sakit kepala, lemas, nafsu makan menurun (anoreksia), nyeri otot serta konsentrasi dan kemampuan berfikir menurun (Mardianingrum *et al.*, 2019). Salah satu tanaman yang dijadikan obat tradisional dengan aktivitas antipiretik yaitu tumbuhan daun kirinyuh (*Chromolaena odorata L.*).

Kirinyuh (*Chromolaena odorata L.*) sudah dikenal oleh sebagian besar masyarakat sebagai pengobatan luka, amenore, gigitan lintah, radang selaput, lendir hidung, dekonjestan, diare pada penderita diabetes, rematik dan demam (Chakra, Sujit dan Umesh, 2013). Peneliti sebelumnya telah melakukan penelitian terhadap ekstrak etanol daun kirinyuh (*Chormolaena odorata L*) yang memiliki aktivitas antidiabetes dengan 3 kelompok uji yang digunakan menyatakan bahwa pada dosis 600 mg/kgBB atau 52,24% ekstrak etanol daun kirinyuh memiliki aktivitas antidiabetes terbaik dibandingkan dengan insulin dan dosis lainnya dengan perbedaan bermakna ($p < 0,05$) (Fitriani *et al.*, 2018). Peneliti lain menyebutkan bahwa fraksi flavonoid dari n-butanol dan Dicloromethane dapat menurunkan suhu secara signifikan pada seluruh interval (60, 90 dan 120 menit) dimana suhu rektal diukur ($p < 0,05$) (Owoyele *et al.*, 2008). Daun kirinyuh (*Chormolaena odorata L.*) mengandung senyawa seperti flavonoid, alkaloid, steroid, fenol, terpenoid (Endang *et al.*, 2020) dan minyak atsiri yang mengandung α - pinene, β - caryophyllene, cadinene, camphora, candinol isomer dan limonene. (Rahman, A., 2017).

Berdasarkan pemaparan diatas, peneliti akan melakukan uji aktivitas antipiretik terhadap minyak atsiri dan ekstrak etanol residu daun kirinyuh (*Chormolaena odorta L.*) serta uji toksisitas akut dengan penentuan pengukuran LD₅₀ terhadap mencit (*Mus Musculus*).

1.2. Rumusan Masalah

- a. Bagaimana aktifitas minyak atsiri dan ekstrak etanol residu daun kirinyuh (*Chormolaena odorata L.*) sebagai antipiretik pada mencit (*Mus Musculus*) yang di induksi DPT ?
- b. Berapakan nilai LD₅₀ minyak atsiri dan ekstrak etanol residu daun kirinyuh (*Chormolaena odorta L.*) pada mencit (*Mus Musculus*)?
- c. Termasuk dalam apa kategori toksisitas minyak atsiri daun kirinyuh (*Cormolaena odorta L.*) pada mencit (*Mus Musculus*)?

1.3. Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini untuk :

- a. Mengetahui aktivitas antipiretik minyak atsiri dan ekstrak etanol residu daun kirinyuh (*Chormolaena odorata L.*) terhadap mencit (*Mus Musculus*) sebagai antipiretik yang di induksi DPT
- b. Mengetahui nilai LD₅₀ dari minyak atsiri dan ekstrak etanol residu daun kirinyuh (*Chormolaena odorta L.*)
- c. Mengetahui kategori toksisitas dari minyak atsiri daun kirinyuh (*Chormolaena odorta L.*)

1.4. Hipotesis Penelitian

Berdasarkan teori yang akan dipaparkan, maka di tarik hipotesis bahwa minyak atsiri dan ekstrak residu daun kirinyuh (*Chormolaena odorta L.*) memiliki aktivitas antipiretik dan bersifat tidak toksik.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Kirinyuh (*Chormolaena odorata L.*)

2.1.1. Klasifikasi Tumbuhan



Gambar 2. 1 Tumbuhan Daun Kirinyuh (*Chromolaena odorata L.*) (Dokumen Pribadi)

Menurut Pink dalam Damyanti (2012), tumbuhan kirinyuh di klasifikasikan sebagai berikut :

- Kingdom : Plantae
- Subkingdom : Viridiplantae
- Superdivision : Embryophyta
- Divisio : Tracheophyta
- Subdivision : Spermatophytina
- Class : Magnoliopsida
- Superorder : Asteranae
- Ordo : Asterales
- Familia : Asteraceae
- Genus : Chromolaena
- Species : *Chromolaena odorata* (L.) R.M King and H. Rob

2.1.2. Morfologi Tumbuhan

Kirinyuh (*Chormolaena odorata L.*) merupakan spesies bunga semak yang tumbuh dengan cepat berasal dari Amerika Utara dari Florida Texas hingga masuk Meksiko dan Karibia, juga telah dikenal luas di Asia dan Australia (Chakraborty *et al.*, 2011). Di Indonesia sendiri tumbuhan ini digunakan sebagai obat tradisional. Obat tradisional dari kirinyuh biasanya digunakan untuk mengobati luka kulit juga untuk retensi urin, kirinyuh tumbuh biasanya digunakan sebagai tanaman obat atau tanaman hias. (Chakraborty *et al.*, 2011).

Tumbuhan kirinyuh (*Chormolaena odorata L.*) termasuk dalam golongan gulma invasif dengan perkembangan yang sangat cepat juga dikenal dengan gulma siam berdiri membentuk semak padat dan dapat mengganggu tanaman lain karena menghalangi masuknya sinar matahari (Yenti *et al.*, 2012). Tumbuhan ini juga memiliki efek allelopati yaitu dapat menghambat pertumbuhan tumbuhan lain. (Karim *et al.*, 2017). Perkembangbiakan tumbuhan ini sangat mendominasi area dengan cepat sehingga kirinyuh dapat membentuk komunitas padat dan mendominasi lahan mengalahkan pertumbuhan jenis tumbuhan lain. Tumbuhan ini tumbuh di ketinggian 1000-2800 mdpl tetapi di Indonesia sangat mudah ditemukan di daratan rendah khususnya daerah perkebunan (Hadi *et al.* 2000). Maka dari itu kirinyuh digolongkan sebagai gulma yang butuh pengendalian dalam menghambat laju pertumbuhan (Hadi *et al.* 2000).

Daun kirinyuh (*Chromolaena odorata L.*) berbentuk oval dengan bagian bawah lebih lebar, makin ke ujung makin runcing. Panjangnya 6 - 10 cm dan lebarnya 3 – 6 cm (Prawiradiputra, Bambang R, 2007). Tepi daunnya bergerik dan menghadap ke pangkal. Letak daunnya berhadap – hadapan. Karangan bunga terletak di ujung caba (terminal). Dimana setiap karangan terdiri dari 20 – 35 bunga. Warna bunganya kebiru – biruan tetapi lama kelamaan menjadi coklat (Prawiradiputra, Bambang R, 2007)

2.1.3. Khasiat Tumbuhan

Kirinyuh (*Chromolaena odorata L.*) merupakan salah satu tumbuhan obat family Aseteraceae yang daunnya mengandung beberapa senyawa utama seperti tannin, fenol, flavonoid, saponin, steroid dan minyak atsiri. Minyak atsiri dari daun kirinyuh mengandung α - pinene, β - caryophyllene, cadinene, camphora, candinol

isomer, limonene dan pinen (Alara, 2019). Secara empiris kirinyuh bisa digunakan sebagai obat tradisional untuk penyembuhan luka, obat kumur, pengobatan sakit pada tenggorokan, obat batuk, obat malaria, antimikroba, sakit kepala, antidiare, antiinflamasi, diuretic, antihipertensi, antispasmodic dan astringen (Yenti *et al.*, 2011).

2.2. Minyak Atsiri (Essential oil)

Minyak atsiri (*Essential oil*) sudah lama digunakan oleh sebagian masyarakat pedesaan untuk mengobati penyakit. Minyak atsiri juga memiliki bau khas dari tanyaman aslinya dan mudah menguap (Yuliani dan Satuhu, 2012). Beberapa tumbuhan yang menghasilkan minyak atsiri mempunyai zat yang berfungsi sebagai daya tarik. Zat tersebut terdiri dari hormon yang disebut feromon. Feromon berfungsi sebagai penarik serangga untuk membantu penyerbukan, mengusir heean perusak atau sebagai isyarat bahwa tumbuhan tersebut sudah siap panen. Minyak atsiri juga memiliki kandungan komponen aktif yang disebut terpenoid atau terpena. Potensi tumbuhan memiliki kandungan senyawa tersebut berarti tumbuhan tersebut berpotensi untuk dijadikan minyak atsiri (Yuliani dan Satuhu, 2012). Zat ini pula yang mengeluarkan aroma atau bau khas yang terdapat pada banyak tumbuhan misalnya pada rempah – rempah atau yang dapat memberikan cita rasa di dalam industri makanan dan minuman. Senyawa terpena yang terkandung di dalam minyak atsiri dapat dibagi menjadi dua golongan yaitu monoterpen dengan titik didih 140 – 180°C dan seskuiterpen dengan titik didih > 200°C (Yuliani dan Satuhu, 2012)

2.2.1. Kegunaan Minyak Atsiri (*Essential oil*)

Minyak atsiri banyak digunakan dalam industri sebagai bahan pewangi atau penyedap (*flavoring*) (Guenther, 2006). Selain itu minyak atsiri banyak juga digunakan sebagai bahan pewangi kosmetik dan sabun. Minyak atsiri dapat menetralsir bau yang tidak enak dari bahan, misalnya seperti bau busuk pada kulit sintetis. Saat ini sudah dapat dibuat beberapa macam minyak atsiri dari bahan mentah yang dahulu dikesampingkan atau dilupakan karena baunya kurang disukai. Sebagai contoh ialah penambahan senyawa-senyawa aromatik ke dalam produk tertentu, seperti karet sintetis dan lateks, ternyata lebih menguntungkan produsen. Dibidang kesehatan sebagai bahan antiseptik internal atau eksternal, sebagai bahan

analgesik, haemolitik atau antizymatik, sebagai sedatif, stimulan untuk obat sakit perut. (Guenther, 2006)

2.2.2. Metode pengolahan Minyak Atsiri

Terdapat tiga metode penyulingan minyak atsiri, yaitu :

a) Penyulingan dengan air (*water distillation*)

Pada metode ini, bahan yang akan disuling kontak langsung dengan air mendidih. Bahan tersebut mengapung di atas air atau terendam secara sempurna tergantung dari bobot jenis dan jumlah bahan yang disuling. Air dipanaskan dengan metode pemanasan yang biasa dilakukan, yaitu dengan panas langsung, mantel uap, pipa uap melingkar tertutup, atau dengan memakai pipa uap berlingkar terbuka atau berlubang (Guenther, 2006). Ciri khas dari metode ini ialah kontak langsung antara bahan dengan air mendidih. Beberapa jenis bahan harus disuling dengan metode ini, karena bahan harus tercelupkan dan dapat bergerak bebas dalam air mendidih (Guenther, 2006). Jika disuling dengan metode uap langsung, bahan ini akan merekat dan membentuk gumpalan besar yang kompak, sehingga uap tidak dapat berpenetrasi ke dalam bahan (Guenther, 2006).

b) Penyulingan dengan air dan uap (*water steam distillation*)

Pada metode penyulingan ini, bahan olah diletakkan di atas rak-rak atau saringan berlubang. Ketel suling diisi dengan air sampai permukaan air berada tidak jauh di bawah saringan. Air dapat dipanaskan dengan berbagai cara yaitu dengan uap jenuh yang basah dan bertekanan rendah. Ciri khas dari metode ini adalah uap selalu dalam keadaan basah, jenuh, dan tidak terlalu panas; bahan yang disuling hanya berhubungan dengan uap dan tidak dengan air panas (Guenther, 2006).

c) Penyulingan dengan uap langsung (*steam distillation*)

Penyulingan uap atau penyulingan uap langsung dan prinsipnya sama dengan yang telah dibicarakan di atas, kecuali air tidak diisikan dalam ketel. Uap yang digunakan adalah uap jenuh atau uap kelewat panas padatekanan lebih dari 1 atmosfer (Guenther, 2006). Uap dialirkan melalui pipa uap berlingkar yang berpori yang terletak di bawah bahan, dan uap bergerak ke atas melalui bahan yang terletak di atas saringan (Guenther, 2006).

2.3. Demam

Suhu tubuh di atas suhu normal yang bisa disebabkan oleh kelainan didalam otak atau oleh bahan bahan toksik yang mempengaruhi pusat pengaturan suhu disebut demam. Suhu tubuh dikatakan normal berkisaran antara 36,5-37,2°C dengan rata rata 37°C. Suhu tubuh 38°C atau lebih dianggap demam, suhu diatas 39,5°C di anggap demam tinggi dan suhu diatas 41°C didefinisikan sebagai demam sangat tinggi (Akandi Tuuk *et al.*, 2020). Bisa dikatakan demam jika derajat suhunya *rectal temperature* $\geq 38^{\circ}\text{C}$ atau *oral temperature* $\geq 37,2^{\circ}\text{C}$ atau *axillary temperature* $\geq 37,2^{\circ}\text{C}$ (Widyasari, 2017). Penyebabnya demam bisa diakibatkan oleh bakteri, tumor otak atau keadaan sekitar (Guyton, 2007). Demam juga bisa diakibatkan oleh infeksi atau peradangan atau bisa diakibatkan oleh kelainan otak sendiri, zat zat toksik, penyakit penyakit bakteri atau dehidrasi yang dapat melepaskan prostaglandin (Guyton, 2012)

2.3.1. Tipe Tipe Demam

Menurut (Nelwan 2007), tipe demam antara lain :

a. Demam Septik

Demam septik dengan tipe suhu tubuh berangsur naik ke tingkat yang tinggi pada malam hari dan turun kembali ketingkat rendah atau di atas normal pada pagi hari dengan disertai keluhan menggigildan berkeringat

b. Demam Remiten

Demam reitmen, suhu tubuh dapat turun setiap hari tetapi tidak pernah mencapai suhu normal. Selisih dari suhu yang mungkin tercatat kurang lebih dua derajat dan tidak sebesar pada demam septik.

c. Demam Intermiten

Demam intermiten suhu tubuh turun pada tingkatan normal selama beberapa jam dalam satu hari. Jika demam seperti ini terjadi dalam dua hari disebut tersiana, jika dalam dua belas hari bebas demam diantara dua serangan demam disebut kuartana.

d. Demam Kontinyu

Tipe demam kontinyuh variasi suhu sepanjang harinya tidak berbeda lebih dari satu derajat

e. Demam Siklik

Tipe demam siklik adanya kenaikan suhu tubuh selama beberapa hari yang diikuti oleh periode bebas demam. Untuk beberapa hari kemudian diikuti kenaikan suhu seperti semula.

Demam disebabkan oleh produksi zat pirogen (eksogen atau endogen) yang secara langsung mengubah suhu di hipotalamus sehingga menghasilkan pembentukan panas dan konversi panas.

2.3.2. Mekanisme Demam

Demam merupakan peningkatan suhu tubuh yang berhubungan langsung dengan tingkat sitokin pirogen yang memproduksi dalam mengatasi rangsangan. Sebagai respon rangsangan pirogenik, makan monosit, makrofag dan sel kupfer mengeluarkan sitokin yang berperan sebagai pirogen endogen (IL-1, TNF- α , IL-6 dan interferon) yang bekerja di hipotalamus. Sintesis prostaglandin terutama prostaglandin E2 terjadi sebagai respon sitokin melalui metabolisme asam arakidonat melalui jalur siklooksigenase-2 (COX-2) dan menimbulkan peningkatan suhu tubuh. (Ogoina, 2011)

Mekanisme demam juga bisa terjadi melalui jalur non prostaglandin melalui sinyal *affen nervus vagus* yang dimediasi oleh *Macrophage Inflammatory Protein-1* (MIP-1) yang bekerja langsung di hipotalamus anterior. Demam jalur non prostaglandin ini tidak dapat di hambat oleh antipiretik (Nelwa, 2006). Kedua mekanisme tersebut mendorong suhu untuk naik akibat respon terhadap rangsangan pirogenik yang dialami bukan oleh kerusakan mekanisme termoregulasi. (Ogoina, 2011)

2.3.3. Terapi Obat yang digunakan untuk Demam

Upaya yang sering dilakukan untuk menurunkan demam dengan memberikan antipiretik seperti Paracetamol, Ibuprofen, Aspirin.

a) Parasetamol (*Acetaminophen*)

Parasetamol merupakan obat pilihan pada anak-anak. Efek anti inflamasi parasetamol hampir tidak ada. Di Indonesia, parasetamol tersedia sebagai obat bebas, misalnya Panadol, Bodrex, INZA, dan Termorex. Parasetamol memiliki sifat analgesik yang menghilangkan atau mengurangi nyeri ringan sampai sedang. Parasetamol menurunkan suhu tubuh dengan mekanisme yang diduga juga berdasarkan efek sentral. Parasetamol

merupakan penghambat prostaglandin yang lemah. Efek iritasi, erosi, dan perdarahan lambung tidak terlihat pada obat ini, demikian juga gangguan pernapasan dan keseimbangan asam basa (Tjay, T.H., dan Rahardja, K., 2002).

Di Indonesia penggunaan parasetamol sebagai analgesik dan antipiretik telah menggantikan penggunaan salisilat. Sebagai analgesik, parasetamol sebaiknya tidak diberikan terlalu lama karena kemungkinan menimbulkan nefropati analgesik. Dosis yang dianjurkan adalah 10-15 mg/kg/kali setiap 4-6 jam (4 kali/hari). Parasetamol terbukti efektif dan aman apabila diberikan sesuai dosis yang direkomendasikan. Efek samping yang mungkin timbul adalah reaksi hipersensitivitas berupa eritema atau urtikaria dengan gejala yang lebih berat berupa demam dan lesi pada mukosa (*sindroma steven johnson*) (Tjay, T.H., dan Rahardja, K., 2002).

Hepatotoksisitas dapat terjadi pada dosis toksis yaitu dosis tunggal 10-15 gram parasetamol. Pemberian parasetamol secara bersamaan dengan ibuprofen dapat meningkatkan resiko gangguan hati dan ginjal. NAPN juga menegaskan agar tidak memberi kombinasi selang-seling parasetamol dan ibuprofen kecuali atas petunjuk dokter (Tjay, T.H., dan Rahardja, K., 2002)

b) Ibuprofen

Ibuprofen merupakan golongan obat antiinflamasi non steroid (OAINS) yang sering digunakan sebagai antipiretik pada anak. Obat ini bersifat analgesik dengan daya antiinflamasi yang tidak terlalu kuat. Efek analgesiknya sama seperti aspirin. Dosis yang dianjurkan adalah 5-10 mg/kg/kali setiap 6-8 jam (3-4 kali/hari). Ibuprofen juga terbukti efektif dan aman sebagai antipiretik, namun tidak dianjurkan pada anak usia dibawah 6 bulan atau diberikan dalam jangka waktu lama (Wilmana & Gan, 2007).

Efek antiinflamasinya terlihat pada dosis 1200-2400 mg sehari. Ibuprofen oral sering diresepkan dalam dosis yang lebih rendah (<2400mg/hari), yang pada dosis ini mempunyai kemanjuran analgesik tetapi kurang bersifat antiinflamasi. Ibuprofen relatif lebih lama dikenal dan tidak menimbulkan efek samping serius pada dosis analgesik, maka

ibuprofen dijual sebagai obat generik bebas di berbagai negara antara lain Amerika Serikat dan Inggris. Ibuprofen tersedia di toko obat dalam dosis lebih rendah dengan berbagai merek, salah satunya ialah Proris (Wilmana & Gan, 2007).

Iritasi gastrointestinal dan pendarahan terjadi, sekalipun tidak sesering seperti dengan aspirin. Pemakaian ibuprofen bersamaan dengan aspirin mungkin menurunkan efek antiinflamasi total (Wilmana & Gan, 2007). Di samping gejala-gejala gastrointestinal (yang bisa dimodifikasi dengan meminum obat tersebut bersama makanan), ruam kulit, pruritus, tinitus, pusing, sakit kepala, meningitis aseptis (khususnya pada pasien dengan lupus eritematosus sistemik), dan retensi cairan telah dilaporkan. Ibuprofen dapat diberikan untuk anak berumur > 6 bulan, namun jangan diberikan pada anak dengan dehidrasi atau sering muntah (Wilmana & Gan, 2007).

c) Aspirin

Aspirin atau asam asetil salisilat atau asetosal adalah suatu jenis obat dari keluarga salisilat yang sering digunakan sebagai analgesik (terhadap rasa sakit atau nyeri), antipiretik (terhadap demam) dan anti-inflamasi (Soejatmiko, 2005). Aspirin juga memiliki efek antikoagulan dan digunakan dalam dosis rendah dalam tempo lama untuk mencegah serangan jantung. Beberapa contoh aspirin yang beredar di Indonesia ialah Bodrexin, Inzana. Aspirin merupakan obat yang efektif untuk mengurangi demam, namun tidak direkomendasikan pada anak. Aspirin, karena efek sampingnya merangsang lambung dan dapat mengakibatkan perdarahan usus maka tidak dianjurkan untuk demam ringan (Soejatmiko, 2005).

Efek samping sepertirasa tidak enak di perut, mual dan perdarahan saluran cerna biasanya dapat dihindarkan bila dosis per hari tidak lebih dari 325 mg. Penggunaan bersama antasid atau antagonis H₂ dapat mengurangi efek tersebut. (Soejatmiko, 2005).

Aspirin juga dapat menghambat aktivitas trombosit (berfungsi dalam pembekuan darah) dan dapat memicu risiko perdarahan sehingga tidak dianjurkan untuk menurunkan suhu tubuh pada demam berdarah

dengue. Pemberian aspirin pada anak dengan infeksi virus terbukti meningkatkan risiko Sindroma Reye, sebuah penyakit yang jarang yang ditandai dengan kerusakan hati dan ginjal. Oleh karena itu, tidak dianjurkan untuk anak berusia < 16 tahun. (Soejatmiko, 2005)

2.4. Uji Toksisitas

Toksisitas suatu keadaan yang menandakan adanya efek toksik/racun yang terdapat pada bahan sebagai sediaan *single dose* atau campuran. Toksisitas akut ini diteliti pada hewan percobaan yang menunjukkan evaluasi keamanan dari kandungan kimia untuk penggunaan produk rumah tangga, bahan tambahan makanan, kosmetik, obat-obatan (Donatus, 2005).

Uji toksisitas dilakukan untuk mendapatkan informasi atau data tentang toksisitas suatu bahan (kimia) pada hewan uji (Donatus, 2005). Secara umum uji toksisitas dapat dikelompokkan menjadi uji toksisitas jangka pendek/akut, dan uji toksisitas jangka panjang. Uji toksisitas akut dimaksudkan untuk mendapatkan informasi tentang gejala keracunan, penyebab kematian, urutan proses kematian dan rentang dosis yang mematikan hewan uji *Lethal dose* (LD_{50}) suatu bahan. Uji toksisitas akut merupakan efek yang merugikan yang timbul segera sesudah pemberian suatu bahan sebagai dosis tunggal, atau berulang yang diberikandalam 24 jam (Donatus, 2005).

Uji toksisitas akut dirancang untuk menentukan atau menunjukkan secara kasar median LD_{50} dari toksikan. LD_{50} ditetapkan sebagai tanda statistik pada pemberian suatu bahan sebagai dosis tunggal yang dapat menyebabkan kematian 50% hewan uji (Priyanto, 2010). Jumlah kematian hewan uji dipakai sebagai ukuran untuk efek toksik suatu bahan (kimia) pada sekelompok hewan uji. Jika dalam hal ini hewan uji dipandang sebagai subjek, respon berupa kematian tersebut merupakan suatu respon diskretik. Ini berarti hanya ada dua macam respon yaitu ada atau tidak ada kematian (Donatus, 2005).

Jumlah kematian hewan uji dipakai sebagai ukuran untuk efek toksik suatu bahan (kimia) pada sekelompok hewan uji. Jika dalam hal ini hewan uji dipandang sebagai subjek, respon berupa kematian tersebut merupakan

suatu respon diskretik. Ini berarti hanya ada dua macam respon yaitu ada atau tidak ada kematian (Donatus, 2005).

Menurut Weil, penelitian uji toksisitas akut ini paling tidak menggunakan empat peringkat dosis yang masing masing peringkat dosis menggunakan paling sedikit empat hewan uji. Dosis dibuat sebagai suatu peringkat dengan kelipatan logaritmik yang tetap (Priyanto, 2010). Dosis terendah merupakan dosis yang tidak menyebabkan timbulnya efek atau gejala keracunan, dan dosis tertinggi merupakan dosis yang menyebabkan kematian semua (100%) hewan uji. Cara pemberian obat atau bahan yang diteliti harus disesuaikan pada pemberiannya pada manusia, sehingga dapat mempermudah dalam melakukan ekstrapolasi dari hewan ke manusia (Priyanto, 2010).

Dalam uji toksisitas akut, penentuan LD₅₀ dilakukan dengan cara menghitung jumlah kematian hewan uji yang terjadi dalam 24 jam pertama sesudah pemberian dosis tunggal bahan yang diteliti menurut cara yang ditunjukkan oleh para ahli. Namun demikian, kematian dapat terjadi sesudah 24 jam pertama karena proses keracunan dapat berjalan lambat (Priyanto, 2010).

Data yang dikumpulkan pada uji toksisitas akut adalah data kuantitatif yang berupa kisaran dosis letal atau toksik, dan data kualitatif yang berupa gejala klinis. Kerja suatu obat dapat dipengaruhi oleh konsentrasi obat, spesies hewan, faktor endogen (usia, berat badan, jenis kelamin, kesehatan hewan), diet terkait dengan komposisi pakan, cara pemberian, temperatur serta musim (Priyanto, 2010)

BAB III

METODOLOGI PENELITIAN

3.1. Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Farmakologi Program Studi Farmasi Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Bakti Tunas Husada Tasikmalaya, Laboratorium Herbarium Jatinangor Laboratorium Taksonomi Tumbuhan Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Padjajaran Bandung, Kebun Percobaan Manoko Lembang Bandung Barat. Penelitian dilakukan pada Bulan Januari 2021 sampai Juni 2021

3.2. Etik Penelitian

Seluruh penelitian ini telah disetujui oleh etik penelitian di Komisi Etik Penelitian Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Bakti Tunas Husada Tasikmalaya dengan No.050/kepk-bth/VI/2021 (Lampiran 1)

3.3. Alat dan Bahan

3.3.1. Alat

Alat yang digunakan untuk pembuatan minyak atsiri daun kirinyuh (*Chormolaena odorta L.*) gelas destilasi uap-air, corong pisah, *thermometer*, *microwave*, *distiller*, *connector*, kondensor, steam. Alat – alat lain yang digunakan gelas kimia (*pyrex*), sonde oral (*Europlex*), spuit 1mL, vial, *rotary evaporator*, *Gass Chromatography-mass spectrometry* (GC-MS), pipet tetes, batang pengaduk, aluminium *foil*, spuit 1mL, gelas kimia.

3.3.2. Bahan

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah Daun kirinyuh (*Chormolaena odorta L.*). Bahan kimia yang di gunakan adalah Na.CMC, etanol 95%, vaksin *Difteri, Pertusis dan Tetanus* (DPT), parasetamol, asam sulfat, pereaksi *Mayer*, pereaksi *Dragendroff*, serbuk magnesium, asam klorida, amil alkohol, FeCl₃, Gelatin 1%, asam asetat glasial, natrium hidroksida.

3.4. Sampel Penelitian

3.4.1. Pengambilan Simplisia

Simplisia yang digunakan adalah daun kirinyuh (*Chormolaena odorta L.*) yang diperoleh dari Desa Cibihbul Kecamatan Talagasari Kawalu Kota Tasikmalaya pada tanggal 04 Oktober 2020.

3.4.2. Determinasi Tanaman

Determinasi tanaman dilakukan di Herbarium Jatinangor Laboratorium Taksonomi Tumbuhan Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Padjajaran Bandung.

3.4.3. Pembuatan Minyak Atsiri

Proses pembuatan minyak atsiri dilakukan dengan cara destilasi uap. Daun kirinyuh yang sudah kering dimasukan kedalam alat destilasi uap sebanyak 1 kg dengan suhu sekitar 100-105°C, kemudian pisahkan minyak atsiri yang masih bercampur kedalam corong pisah lalu tambahkan Na_2SO_4 dan minyak atsiri disimpan dalam vial. Untuk mengetahui suatu komponen senyawa atau campuran menggunakan *Gas Chromatography - Mass Spectrometry* (GC-MS). Untuk mengetahui rendemen minyak atsiri dihitung menggunakan rumus :

$$\text{Rendemen \%} = \frac{\text{massa minyak atsiri yang diperoleh}}{\text{massa sampel awal}} \times 100\%$$

3.4.4. Pembuatan Ekstrak Etanol Residu Minyak Atsiri

Residu dari penyulingan minyak atsiri di ekstraksi menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol 96%. Maserasi dilakukan selama 24 jam dengan pengadukan 3 jam sekali. Hasil rendaman disaring dan dilakukan pemisahan menggunakan *vacum rotary evaporator* sampai kental.

3.4.5. Skrining Fitokimia

a. Alkaloid

Ekstrak etanol residu daun kirinyuh diambil 2mL ditambahkan 1mL asam sulfat (H_2SO_4) 2N lalu dipanaskan 30 menit. Diamkan sampai larutan memisah, lapisan asam diambil dan dibagi menjadi 3 bagian, bagian pertama sebagai blanko, bagian kedua di tetesi pereaksi *Mayer*, dan ketiga

ditetesi dengan pereaksi *Dragendroff*. Positif alkaloid ditandakan dengan adanya endapan jingga (Farnsworth, 1996)

b. Flavonoid

Ekstrak etanol residu daun kirinyuh ambil 5mL dan dimasukkan kedalam tabung reaksi, tambahkan 0,1 gram serbuk magnesium dan 1mL asal klorida pekat dan 2mL amil alkohol, kocok biarkan memisah. Positif flavonoid menandakan adanya perubahan warna merah, kuning, atau jingga pada lapisan amil alkohol (Farnsworth, 1996)

c. Steroid dan Triterpenoid

Ekstrak etanol residu daun kirinyuh ambil sebanyak 2-7 tetes dimasukkan kedalam tabung reaksi. Tambahkan 1-2 tetes larutan asam asetat glasial dan 1-2 tetes larutan asam sulfat pekat (H_2SO_4). Adanya senyawa steroid ditandai dengan perubahan warna biru atau ungu, sedangkan positif dari senyawa terpenoid ditandai dengan adanya perubahan warna merah atau jingga (Harbone, 1987)

d. Saponin

Ekstrak etanol residu daun kirinyuh dimasukkan kedalam tabung reaksi 10mL kemudian di kocok kuat-kuat selama 10 detik. Jika terbentuk busa setinggi 1-10cm yang stabil tidak kurang dari 10 menit dan tidak hilang dengan penambahan 1 tetes asam klorida 2N menunjukkan adanya saponin (Depkes, 1995)

e. Tannin dan Polifenol

Ekstrak etanol residu daun kirinyuh dimasukkan dalam tabung reaksi 1mL kemudian ditambahkan larutan $FeCl_3$. Positif tannin/polifenol dengan adanya perubahan warna hitam kebiruan (Afriani N *et al*, 2016). Sedikit dari filtrat diuji dengan penambahan gelatin 1%. Positif tannin ditandai adanya endapan putih (Farnsworth, 1996)

f. Kuinon

Ekstrak etanol residu daun kirinyuh di tetesi NaOH. Perubahan warna kuning hingga merah menunjukkan hasil positif dari kuinon (Noer S & Pratiwi, 2016)

g. Monoterpen dan Seskuiterpen

Ekstrak etanol residu daun kirinyuh di tetesi pereaksi anisaldehyd-asam sulfat atau vanillin asam sulfat. Terbentuknya warna warna menunjukkan hasil positif dari monoterpenoid (Febriyanti *et al.*, 2014)

3.5. Identifikasi Minyak Atsiri

Minyak atsiri hasil destilasi selanjutnya dianalisis kandungan kimianya menggunakan GC-MS Shimadzu (GCMS-QP2010 SE) yang dilengkapi dengan kolom Rtx-5MS (0.25 mm × 30 m, 0.25- μ m *film thickness*) (Restek, Bellefonte, USA). Program suhu GC: 60.0°C; *temperature* injeksi: 200.0°C; Mode injeksi: *split*; *Flow control* mode: Tekanan 36.2 kPa. *Total flow* 101.3 mL/min. *Column Flow*: 0.75 mL/min. *Linear velocity*: 31.6 cm/sec. *Purge flow*: 3.0 mL/min. Gas pembawa: helium. *Detector*: MS *Ion source temperature*: 200.0°C. *Interface temperature*: 250.0°C. MS mode: EI. *Detector voltage*: 0.1 kV. *Mass range*: 40-400 Da. *Scan speed*: 1250 Da/s. Data dikoleksi dengan mode *full scan* (m/z 40-400). Identifikasi senyawa *volatile* dilakukan dengan *matching* spektra sampel terhadap *library* Wiley GC-MS dan perbandingan dengan *database* NIST05. Kandungan relatif senyawa diukur dari *area under curve* (AUC).

3.6. Prosedur Uji Aktivitas Antipiretik

3.6.1. Penyiapan Hewan

Hewan uji yang digunakan dalam penelitian yaitu mencit (*Mus musculus*) dengan bobot tidak kurang dari 20 gram, berbadan sehat, dan umur 5-6 minggu. Mencit yang digunakan sebanyak 25 ekor dengan 5 kelompok hewan uji dan setiap kelompok terdiri dari 5 mencit. Hewan uji diaklimatisasi selama 7 hari, diberi makan dan minum untuk menyesuaikan diri dengan lingkungan sebelum diberi perlakuan

3.6.2. Pengelompokan Hewan

Untuk menentukan jumlah hewan uji yang akan digunakan dalam setiap kelompoknya digunakan rumus *Federer* yaitu :

$$(t - 1)(n - 1) \geq 15$$

Dimana t merupakan jumlah kelompok percobaan dan n merupakan jumlah pengulangan atau jumlah sampel setiap kelompok. Penelitian ini menggunakan 5 kelompok perlakuan sehingga perhitungan pengelompokan hewan uji menjadi :

$$(t - 1)(n - 1) \geq 15$$

$$(8 - 1)(n - 1) \geq 15$$

$$7(n - 1) \geq 15$$

$$7n - 7 \geq 15$$

$$7n \geq 22$$

$$n \geq 3,1$$

Jadi hewan uji yang digunakan dalam setiap kelompok sebanyak 3 ekor ($n \geq 3.1$) dengan jumlah kelompok yang digunakan 8 kelompok sehingga penelitian ini menggunakan 24 ekor mencit dari populasi yang ada.

3.6.3. Perlakuan Hewan Uji

Tabel 3. 1 Penglompokan dan perlakuan terhadap hewan uji

No	Kelompok	Perlakuan
1	Kontrol Negatif	Mencit di induksi vaksin DPT 0,2mL secara intramuscular dan Na-CMC 1% secara per oral..
2	Kontrol Positif	Mencit di induksi vaksin DPT 0,2mL secara intramuscular dan Na-CMC 1% per oral. Setelah itu berikan paracetamol dengan dosis 1,3mg/20 gram BB mencit secara p.o
3	Dosis Uji I (Minyak Atsiri)	Mencit di induksi vaksin DPT 0,2mL secara intramuscular dan Na-CMC 1% per oral. Setelah berikan minyak atsiri daun kirinyuh dengan dosis 31,5mg/20 gram BB mencit secara p.o
4	Dosis Uji II (Minyak Atsiri)	Mencit di induksi vaksin DPT 0,2mL secara intramuscular dan Na-CMC 1% per oral. Setelah itu berikan minyak atsiri daun kirinyuh dengan dosis 63mg/20 gram BB mencit secara p.o
5	Dosis Uji III (Minyak Atsiri)	Mencit di induksi vaksin DPT 0,2mL secara intramuscular dan Na-CMC 1% per oral. Setelah itu berikan minyak atsiri daun kirinyuh dengan dosis 94mg/20 gram BB mencit.
6	Dosis Uji VI (Residu Ekstrak Etanol)	Mencit di induksi vaksin DPT 0,2mL secara intramuscular dan Na-CMC 1% per oral. Setelah berikan ekstrak etanol residu daun kirinyuh dengan dosis 31,5mg/20 gram BB mencit secara p.o
7	Dosis Uji V (Residu Ekstrak Etanol)	Mencit di induksi vaksin DPT 0,2mL secara intramuscular dan Na-CMC 1% per oral. Setelah itu berikan ekstrak etanol residu daun kirinyuh dengan dosis 63mg/20 gram BB mencit secara p.o
8	Dosis Uji VI (Residu Ekstrak Etanol)	Mencit di induksi vaksin DPT 0,2mL secara intramuscular dan Na-CMC 1% per oral. Setelah itu berikan ekstrak etanol residu daun kirinyuh dengan dosis 94mg/20 gram BB mencit.

Suhu rektal di ukur sebelum induksi dan dua jam setelah induksi, tiga puluh menit setelah perlakuan suhu rektal diukur lagi sampai percobaan pada menit ke-180 dengan interval 30 menit.

3.7. Prosedur Uji Toksisitas Akut pada Mencit

3.7.1. Pembuatan larutan koloidal Na-CMC 1%

Sebanyak 2 gram serbuk Na-CMC dimasukkan kedalam 200mL air lalu dipanaskan hingga mendidih, diaduk hingga membentuk larutan koloid jernih yang homogeny menggunakan pengaduk.

3.7.2. Pemilihan dan Penyiapan Hewan Uji

Hewan uji yang digunakan dalam penelitian yaitu mencit (*Mus musculus*) dengan bobot tidak kurang dari 20 gram, berbadan sehat, dan umur 5-6 minggu. Mencit yang digunakan sebanyak 40 ekor dengan 4 kelompok hewan uji dan setiap kelompok terdiri dari 5 mencit betina dan 5 mencit jantan. Hewan uji diaklimatisasi selama 7 hari, diberi makan dan minum untuk menyesuaikan diri dengan lingkungan sebelum diberi perlakuan.

3.7.3. Pengelompokan Hewan Uji

Tabel 3. 2 Penglompokan dan perlakuan terhadap hewan uji

No	Kelompok	Perlakuan
1	Kelompok Normal	Mencit diberikan Na-CMC 1% tanpa pemberian sediaan uji
2	Dosis Uji I	Mencit diberikan Na-CMC 1% dan diberi dosis uji 5mg/kg BB
3	Dosis Uji II	Mencit diberikan Na-CMC 1% dan diberi dosis uji 50mg/kg BB
4	Dosis Uji III	Mencit diberikan Na-CMC 1% dan diberi dosis uji 500mg/kg BB
5	Dosis Uji IV	Mencit diberikan Na-CMC 1% dan diberi dosis uji 5000mg/kg BB

3.7.4. Uji Toksisitas akut

Uji utama dilakukan dengan memperhatikan tingkat dosis dimana terjadi kematian pada uji pendahuluan. Penentuan dosis setiap tingkatan berdasarkan waktu terjadinya gejala toksik. Pengujian tidak diteruskan pada dosis selanjutnya sampai diketahui apakah hewan masih bertahan hidup atau mati. Pada umumnya, klasifikasi bahan uji sudah dapat ditentukan pada dosis awal dan uji selanjutnya tidak diperlukan. Pada uji ini diperlukan sejumlah 5 ekor hewan uji untuk tiap tahapan dosis uji. Kelima ekor hewan tersebut terdiri atas 1 ekor hewan dari uji pendahuluan dan 4 ekor hewan tambahan. Interval waktu antara dosis uji ditentukan oleh onset, lama dan beratnya toksisitas. Peralihan pemberian bahan uji pada tahap dosis berikutnya harus ditunda sampai diperoleh petunjuk bahwa hewan uji tersebut

bertahan hidup. Umumnya diperlukan interval waktu peralihan selama 3-4 hari, namun dapat diperpanjang bila hasilnya tampak meragukan.

3.7.5. Pengamatan

Hewan uji diobservasi secara individual sekurang-kurangnya pada 30 menit pertama setelah pemberian sediaan uji, dan secara periodik setiap 4 jam selama 24 jam pertama dan sehari sekali setelah itu selama 14 hari. Namun durasi pengamatan dapat bervariasi dan diperpanjang tergantung dari reaksi toksik dan waktu onset serta lama waktu kesembuhan. Waktu timbul dan hilangnya gejala toksisitas (khususnya jika ada kecenderungan tanda-tanda toksik yang tertunda) harus dicatat secara sistematis dalam catatan individual yang dilakukan untuk setiap hewan.

3.8. Analisa Data

Pada pengujian antipiretik data yang diperoleh dari penelitian dianalisis secara statistik dengan uji Anova dan uji LSD. Uji Anova adalah uji untuk membandingkan perbedaan mean lebih dari dua kelompok.

Pada pengujian toksisitas data yang dikumpulkan adalah data primer dari hasil pengamatan hewan uji, data yang diperoleh merupakan data kualitatif dan kuantitatif. Data kualitatif untuk mengevaluasi penyebab kematian dan data jumlah hewan yang mati pada masing – masing kelompok digunakan sebagai data kuantitatif untuk menghitung LD_{50} . Jika sampai batas volume maksimum yang boleh diberikan pada hewan uji dan dosis yang diberikan tidak menimbulkan kematian pada hewan uji, maka dosis tersebut dinyatakan dengan LD_{50} semu atau (LD_0). Hasil pengamatan rata - rata berat badan mencit yang diperoleh oleh hewan uji selanjutnya dianalisis secara statistik dengan menggunakan *SPSS* uji *Mann Whitney*

3.9. Jadwal Penelitian

Tabel 3. 3 Jadwal Penelitian

Kegiatan	Tahun 2021																			
	Januari				Februari				Maret				April				Mei			
	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4
Penyiapan Bahan	■	■	■	■																
Determinasi Tanaman					■															
Pembuatan Minyak Atsiri						■	■	■												
Skrining Fitokimia								■												
Aklimitasi Hewan Uji										■										
Pengujian Antipiretik											■	■								
Pengolahan Data											■	■	■	■	■	■				
Pengujian Toksisitas												■	■	■	■	■				
Pengolahan Data													■	■	■	■	■	■	■	■
Penyusunan Laporan																	■	■	■	■

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1. Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia dilakukan untuk mengetahui golongan senyawa yang terdapat dalam ekstrak etanol residu daun kirinyuh. Hasil dari skrining dapat dilihat pada Tabel 4.1 dan (Lampiran 3)

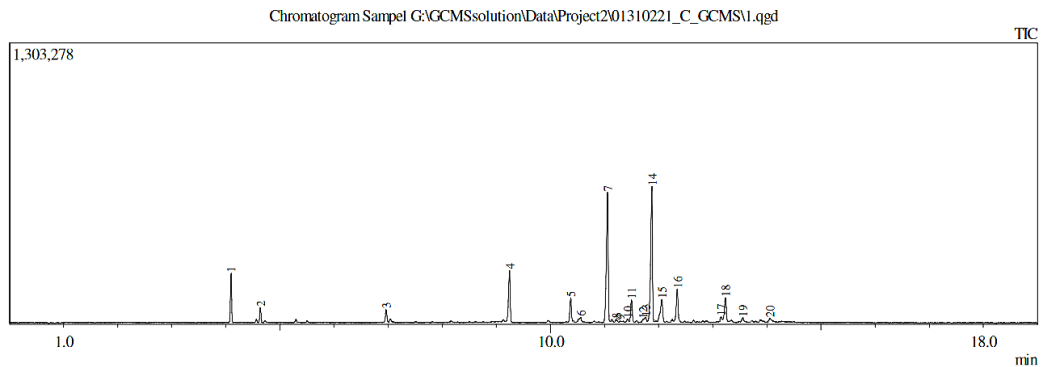
Tabel 4. 1 Hasil Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Residu Daun Kirinyuh

Golongan Senyawa	Hasil
Alkaloid	+
Flavonoid	+
Saponin	+
Polifenol	-
Tanin	+
Steroid	+
Triterpenoid	-
Kuinon	-
Monoterpena dan Seskuiterpen	-

Keterangan : (+) terdapat senyawa
(-) tidak terdapat senyawa

Hasil skrining fitokimia, ekstrak etanol residu daun kirinyuh mengandung senyawa alkaloid, flavonoid, saponin, tanin, dan steroid. Hal tersebut sejalan dengan penelitian sebelumnya yang menyatakan bahwa ekstrak daun kirinyuh positif adanya kandungan alkaloid, flavonoid, saponin, dan steroid (Wahyu, 2021). Senyawa flavonoid telah dikenal memiliki efek antiinflamasi dan antipiretik yang bekerja sebagai inhibitor *cyclooxygenase* (COX). *Cyclooxygenase* (COX) berfungsi untuk memicu pembentukan prostaglandin yang berperan dalam proses inflamasi dan peningkatan suhu, jika prostaglandin tidak di hambat maka terjadi peningkatan suhu yang akan mengakibatkan demam. (Suwertayasa, 2013). Senyawa alkaloid juga memiliki aktivitas sebagai penurun demam dan mengurangi rasa nyeri. (Rivai 2020)

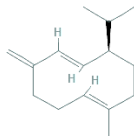
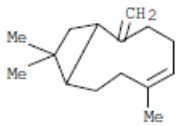
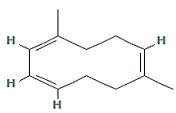
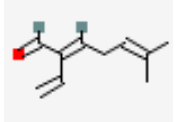
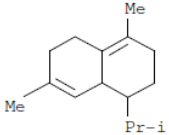
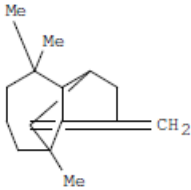

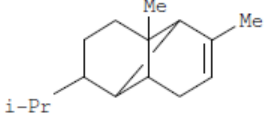
4.2. Analisis GC-MS Minyak Atsiri



Gambar 4. 1 Kromatogram Sampel Minyak Atsiri Daun Kirinyuh

Hasil analisis dengan GC-MS akan diperoleh dua data yaitu kromatogram gas (GC) dan spektra massa dari hasil analisis spektroskopi massa (MS). Kromatogram dari analisis dengan GC-MS menunjukkan ada dua puluh puncak yang terdeteksi, namun ada delapan puncak tertinggi yang teridentifikasi dalam golongan minyak atsiri, Kromatogram minyak atsiri tumbuhan Daun Kirinyuh ditunjukkan pada Gambar 4.1.

Tabel 4. 2 Spektrum Massa Masing Masing Puncak Pada Kromatogram Minyak Atsiri Daun Kirinyuh

No	Nomor Puncak	Waktu retensi (Menit)	Persentase	Senyawa yang diduga	Database Pemandang	Struktur Kimia
1	14	11.874	24,80%	Germacrene D	NIST05	
2	7	11.053	23,97%	Trans-Caryophyllene	NIST05	
3	4	9.242	9,32%	Pregeijeren	NIST05	
4	1	4.094	6,86%	Cis-Ocimene	NIST05	
5	16	12.343	6,38%	δ -Cadinene	NIST05	
6	15	12.057	5,93%	Junipene Longifolene	or NIST05	
7	18	13.235	4,94%	Longipinene epoxide	NIST05	
8	5	10.374	3,88%	α -Copaene	NIST05	

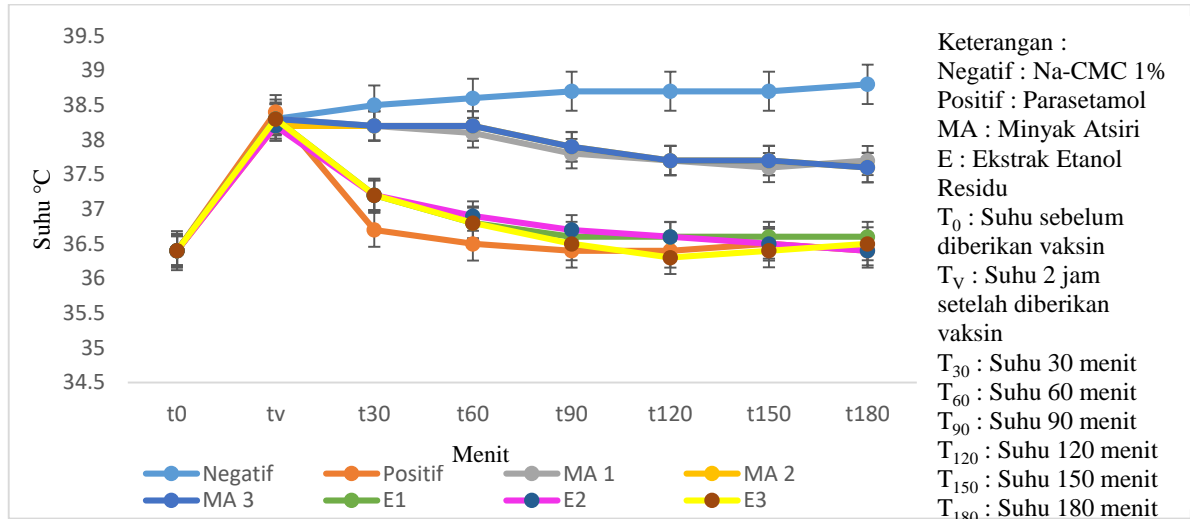
Berdasarkan Tabel 4.2 hasil analisis dengan minyak atsiri menggunakan GC-MS mengandung senyawa *Germacrene D* (24.80%), *Trans-Caryophyllene* (23,97) , *Pregeijeren* (9,32%), *Cis-Ocimene* (6,86%), δ -*Cadinene* (6,38%), α -*Copaene* (3,88%), *Longipinene epoxide* (4,94%), dan *Junipene or Longifolene*

(4,94%). Peneliti sebelumnya menyebutkan bahwa komposisi minyak atsiri daun kirinyuh mengandung senyawa *Germacrene D* (23,86%), *Trans-caryophyllene* (21,07%), *Cadinene* (14,30%), *Hexadecanoic acid (CAS) palmitic acid* (12,07%), dan *Octadecatrienoic acid methyle ester* (6,30%) (Putry, 2021). Peneliti lain juga menyebutkan bahwa komposisi minyak atsiri daun kirinyuh mengandung senyawa golongan asam lemak (44,28%), monoterpen (24,11%), sesquiterpen (19,45%), asiklic terpen alkohol (11,02%), andalkena (1,04%) (Alara, 2019). Selain itu di Thailand menyebutkan bahwa komposisi minyak atsiri daun kirinyuh terdiri dari *geigerne* (3,1%), *α-pinene* (42,2%), dan *pregeigeren* (17,6%) (Alara, 2019). Peneliti lain juga menyebutkan konstituen utama yang terdapat di minyak atsiri daun kirinyuh yaitu 5 turunan fenil (41,6%), diikuti oleh 5 sesquiterpen teroksisigenasi (26,6%), 6 hidrokarbon sesquiterpen (6,8%), 4 monoterpen teroksisigenasi (2,8%), dan 3 monoterpen hidrokarbon (0,9%) (Rajesh K. Joshi, 2013).

Komposisi minyak atsiri daun kirinyuh sering berubah di setiap bagian tumbuhan yang berbeda, perbedaan tergantung pada perbedaan jaringan (sel sekretori dan rongga ekskresi) dan fase ontogenetik dari masing masing tanaman (Rajesh k. Joshi), atau bisa disebabkan oleh lokasi geografis yang berbeda, kondisi iklim, jenis tanah, suhu, dan waktu pengumpulan sampel tanaman yang diperoleh. (Alara, 2019)

4.3. Uji Aktivitas Antipiretik

Hasil pengujian aktivitas antipiretik minyak atsiri dan ekstrak residu daun kirinyuh dapat dilihat pada **Gambar 4.2**



Gambar 4. 2 Grafik Pengujian Aktivitas Antipiretik Minyak Atsiri dan Ekstrak Etanol Residu Daun Kirinyuh

Tabel 4. 3 Hasil Analisis Uji Anova Pengujian Aktivitas Antipiretik Minyak Atsiri dan Ekstrak Etanol Residu Daun Kirinyuh

Nilai signifikansi							
T ₀	T _V	T ₃₀	T ₆₀	T ₉₀	T ₁₂₀	T ₁₅₀	T ₁₈₀
0,828	0,028	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000

Tabel 4. 4 Hasil Analisis Uji Pos Hoc LSD Pengujian Antipiretik Minyak Atsiri dan Ekstrak Etanol Residu Daun Kirinyuh

	Negatif vs MA-1	Negatif vs MA-2	Negatif vs MA-3	Negatif vs E-1	Negatif vs E-2	Negatif vs E-3
T ₀	0,301	0,600	0,600	0,301	0,301	0,555
T _V	0,245	0,008*	0,555	0,555	0,028*	1,000
T ₃₀	0,014*	0,002*	0,005*	0,000*	0,000*	0,000*
T ₆₀	0,005*	0,000*	0,013*	0,000*	0,000*	0,000*
T ₉₀	0,000*	0,000*	0,000*	0,000*	0,000*	0,000
T ₁₂₀	0,000*	0,000*	0,000*	0,000*	0,000*	0,000*
T ₁₅₀	0,000*	0,000*	0,000*	0,000*	0,000*	0,000*
T ₁₈₀	0,000*	0,000*	0,000*	0,000*	0,000*	0,000*

Keterangan :

MA : Minyak Atsiri Daun Kirinyuh

E : Ekstrak Etanol Residu Daun Kirinyuh

* : Terdapat perbedaan bermakna dibandingkan kelompok negatif ($p < 0,05$)

Tabel 4. 5 Hasil Analisis Uji Pos Hoc LSD Pengujian Antipiretik Minyak Atsiri dan Ekstrak Etanol Residu daun Kirinyuh

	Positif vs MA-1	Positif vs MA-2	Positif vs MA-3	Positif vs E-1	Positif vs E-2	Positif vs E-3
T ₀	0,301	0,600	0,600	0,301	0,301	1,000
T _V	0,089	0,002	0,245	0,245	0,008*	0,555
T ₃₀	0,000*	0,000*	0,000*	0,000*	0,000*	0,000*
T ₆₀	0,000*	0,000*	0,000*	0,022*	0,003*	0,036*
T ₉₀	0,000*	0,000*	0,000*	0,047*	0,027*	0,430
T ₁₂₀	0,000*	0,000*	0,000*	0,001*	0,002*	0,245
T ₁₅₀	0,000*	0,000*	0,000*	0,017*	0,600	0,600
T ₁₈₀	0,000*	0,000*	0,000*	0,001*	1,000	0,041*

Keterangan :

MA : Minyak Atsiri Daun Kirinyuh

E : Ekstrak Etanol Daun Kirinyuh

* : Terdapat perbedaan bermakna dibandingkan kelompok positif ($p < 0,05$)

Hasil Gambar 4.2 menunjukan bahwa suhu rektal pada kelompok negatif mengalami peningkatan hingga menit ke-150 menit dibandingkan dengan suhu sebelum induksi. Hal ini disebabkan kelompok kontrol negatif hanya diberikan vaksin DPT yang berperan sebagai pirogen eksogen. Sedangkan suhu rektal pada kelompok positif cenderung menurun sampai menit ke-90 dan mengalami peningkatan kembali pada menit ke-120. Walaupun mengalami peningkatan kembali suhu tetap menurun jika dibandingkan dengan suhu kelompok negatif. Hal ini terjadi karena aktivitas antipiretik pada parasetamol dengan cara menghambat kerja enzim COX-3 di sel endotel anterior hipotalamus pada jalur pembentukan prostaglandin di sistem saraf pusat sehingga dapat menurunkan suhu demam pada mencit (Mardianingrum, 2019).

Berdasarkan Gambar 4.2 menit ke-30 kelompok positif, dosis ekstrak 1, dosis 2 dan dosis 3 suhu cenderung mulai mengalami penurunan juga pada menit ke-90 kelompok dosis minyak atsiri 1, dosis 2 dan dosis 3 mulai menurun. Peningkatan aktivitas penurunan suhu tersebut berkaitan dengan adanya peningkatan konsentrasi zat aktif sesuai dengan peningkatan dosis. (Mardianingrum 2019)

Berdasarkan Tabel 4.3 menunjukan tidak adanya perbedaan yang signifikan terhadap kenaikan suhu sebelum diberikan induksi pada semua kelompok uji pada

menit ke-0 ($p > 0,05$). Tetapi terdapat perbedaan yang signifikan ($p < 0,05$) antara semua kelompok uji pada menit setelah di induksi vaksin DPT, menit ke-30 hingga menit ke-180 selang waktu pengamatan. Berdasarkan Tabel 4.4 hasil analisis menunjukkan bahwa pada tidak terdapat perbedaan yang bermakna ($p > 0,05$) antara kelompok negatif dengan semua kelompok dosis uji pada menit ke-0 sampai menit setelah induksi vaksin DPT. Juga terdapat perbedaan yang signifikan antara kelompok negatif dengan semua kelompok dosis uji ($p < 0,05$) pada menit ke-30 hingga menit ke-180 selang waktu pengamatan. Hal ini menyatakan adanya perbedaan yang bermakna efek antipiretik antar kelompok selang waktu pengamatan.

Berdasarkan hasil analisis statistik pada Tabel 4.5 tidak terdapat perbedaan yang bermakna ($p > 0,05$) antara kelompok positif dengan kelompok dosis uji pada menit sebelum dan setelah induksi vaksin DPT. Tetapi terdapat perbedaan yang bermakna ($p < 0,05$) antara kelompok positif dengan kelompok dosis 1, dosis 2, dosis 3 uji minyak atsiri daun kirinyuh dan kelompok dosis 1 uji ekstrak etanol residu daun kirinyuh pada menit ke-30 sampai menit ke-180 dosis uji 2 ekstrak etanol residu daun kirinyuh pada menit ke-30 sampai menit ke-120 dan dosis uji ekstra residu daun kirinyuh pada menit ke-30 sampai menit ke-60. Hal ini menyatakan bahwa kelompok dosis uji minyak atsiri dan kelompok dosis uji 1 ekstrak memiliki efek penurunan yang berbeda dengan kontrol positif (Parasetamol).

Aktivitas antipiretik pada minyak atsiri dan ekstrak etanol residu daun kirinyuh karena minyak atsiri yang memiliki senyawa *trans-caryophyllene*, pada penelitian sebelumnya *trans-caryophyllene* efektif dalam menurunkan $iL-1\beta$ (*Interleukine 1\beta*) dan menurunkan produksi PGE2 (Prostaglandin E2) yang memiliki efek antipiretik karena berpotensi mempengaruhi biosintesis prostaglandin di hipotalamus (Costa, *et al.* 2019). Pada ekstrak etanol residu daun kirinyuh memiliki senyawa flavonoid dan alkaloid dimana flavonoid dikenal mempunyai efek antipiretik dengan cara menghambat aktivitas enzim COX dan *lipooksigenase* secara langsung yang menyebabkan penghambatan biosintesis prostaglandin serta *leukotriene* yang dapat menurunkan suhu demam (Kalaya *et al.*, 2014)

4.4. Uji Toksisitas Akut

Tabel 4. 6 Hasil Rata Rata Selisih Berat Badan Sebelum dan Sesudah, Standar Deviasi dan Uji Analisis Statistik

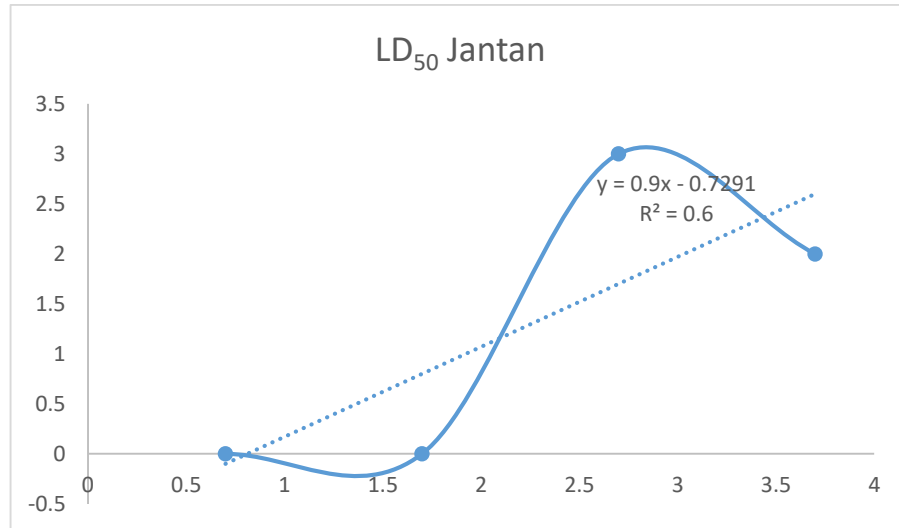
Kelompok Uji	Rata-rata Selisih Berat Badan (gram) Sebelum dan Sesudah \pm SD		P Value	
	Jantan	Betina	<i>Mann-Whitney</i>	<i>Mann-Whitney</i>
			Jantan	Betina
Kontrol	2,42 \pm 0,48	2,36 \pm 0,48		
D1	3,4 \pm 0,79	3,64 \pm 3,64	0,056	0,032
D2	2,36 \pm 0,54	2,62 \pm 0,38	0,841	0,421
D3	1,82 \pm 0,35	2,16 \pm 0,54	0,056	0,421
D4	2,62 \pm 0,64	1,98 \pm 0,48	0,548	0,421

Berdasarkan Tabel 4.6 menunjukkan nilai signifikansi selisih berat badan mencit sesudah dan sebelum dilakukan induksi pada kelompok kontrol dan semua dosis uji mencit jantan dan mencit betina dengan menggunakan analisis statistik *Mann-Whitney*. Pada mencit jantan tidak terdapat perbedaan yang bermakna ($p > 0,05$) antara kelompok kontrol dan semua kelompok dosis uji. Hal ini menyatakan bahwa semua kelompok dosis tidak terdapat pengaruh apapun terhadap berat badan walaupun pada selisih berat badan terdapat peningkatan berat badan didosis 1 dan terdapat penurunan berat badan didosis 3. Pada dosis 1 dilihat dari rata rata selisih berat badan selain memiliki aktivitas antipiretik kemungkinan minyak atsiri daun kirinyuh memiliki aktivitas terhadap kenaikan berat badan, meningkatkan nafsu makan dan menurunkan metabolisme. Pada dosis 3 dilihat dari rata rata selisih berat badan memiliki aktivitas terhadap penurunan berat badan. Pada mencit betina terdapat perbedaan yang bermakna ($p < 0,05$) antara kelompok kontrol dengan dosis 1. Hal ini menyatakan bahwa pada dosis 1 minyak atsiri berpengaruh terhadap kenaikan berat badan.

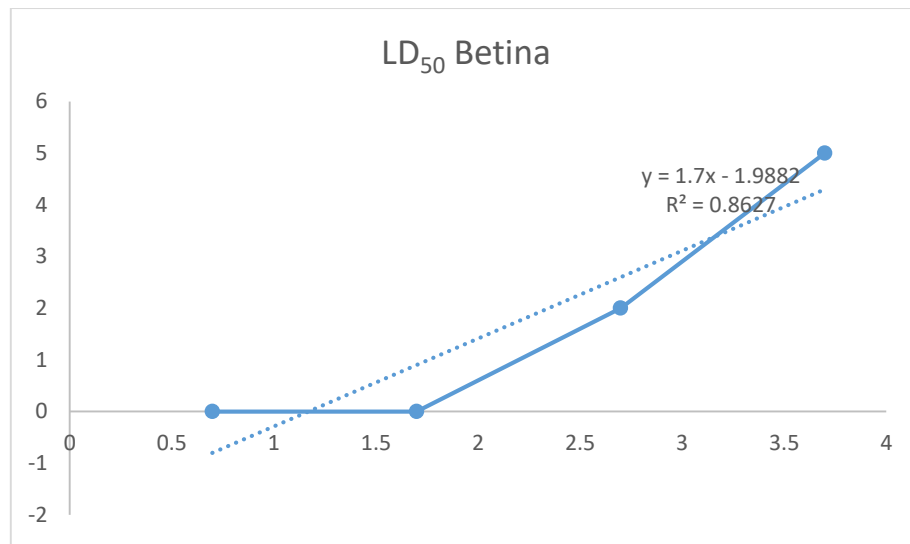
Pengamatan berat badan mencit merupakan parameter uji toksisitas akut yang merupakan indikator sensitif terhadap kondisi hewan uji (Dewi, 2015). Jika adanya penurunan berat badan yang drastis dan memiliki perbedaan bermakna bila dibandingkan dengan kontrol merupakan pertanda kesehatan yang buruk (Dewi, 2015). Hal ini bisa disebabkan oleh adanya tanda tanda toksis yang spesifik, penyakit atau kurangnya asupan makan dan minum pada mencit (Dewi, 2015). Pada perbandingan antara berat badan mencit sebelum dan sesudah di berikan induksi

terdapat perbedaan yang signifikan. Faktor bisa disebabkan karena adanya asupan makanan dalam jangka waktu 14 hari (Dewi, 2015).

Uji toksisitas akut pada minyak atsiri daun kirinyuh (*Chromolaena odorata* L.) dilakukan terhadap mencit jantan. Dosis yang digunakan : 5, 50, 500, 5000 mg/kg bb.



Gambar 4. 3 Grafik Hasil Regresi Linier LD50 Pada Mencit Jantan



Gambar 4. 4 Grafik Hasil Regresi Linear LD50 Pada Mencit Betina

Berdasarkan Grafik 4.3 dan Grafik 4.4 minyak atsiri daun kirinyuh pada dosis 5, 50 mg/kg bb tidak terdapat kematian pada mencit setelah diberikan sediaan uji selama 14 hari. Kematian hewan uji muncul pada dosis 500 mg/kg bb dengan kematian mencit 3 ekor mencit pada mencit betina dan 2 mencit pada mencit jantan.

Hal tersebut dikarenakan besarnya dosis pada mencit dikarenakan efek toksik akan semakin bertambah seiring dengan naiknya dosis (Dinda, 2018).

Hasil LD₅₀ Minyak atsiri daun kirinyuh dihitung dapat dihitung dengan syarat menggunakan seri doisi dengan pengenceran yang berkelipatan tetap, terdapat empat peringkat dosis dari dosis rendah yang tidak atau hampir mematikan seluruh hewan uji sampai dengan dosis tertinggi yang dapat mematikan seluruh atau hampir seluruh hewan uji sehingga memperoleh data kematian yang signifikan (Ditjen POM, 1979). Hasil akhir perhitungan LD₅₀ (Lampiran 5) senyawa yang terkandung pada minyak atsiri daun kirinyuh pada mencit jantan di kategorikan sebagai “Toksik Ringan” dengan nilai LD₅₀ yaitu 2685,96 mg/kg BB dan pada mencit betina dikategorikan sebagai “Toksik Ringan” dengan nilai LD₅₀ yaitu 2872,10 mg/kg BB.

Beberapa senyawa golongan monoterpene dan sesquiterpene ditemukan dalam minyak atsiri daun kirinyuh sebagai efek pengobatan dari minyak atsiri daun kirinyuh. Pada golongan terpen bermanfaat untuk digunakan sebagai obat antikanker dalam pengobatan tumor yang resisten terhadap kemoterapi untuk meminimalkan efek samping dari pengobatan (Yu *et al.*, 1995). Peneliti sebelumnya menyebutkan bahwa senyawa *Germacrene D* memiliki adanya aktivitas toksisitas dilihat dari uji histopatologi pada ginjal dengan menjukan adanya tanda tanda edema dan perubahan hidropik pada dosis sedang yaitu 100 mg / kg BB dan menunjukkan adanya edema serta lesi nekrosis dengan glomelurus disertai distorsi tubulus yang merupaka indikasi kerusakan jaringan pada dosis tinggi yaitu 500mg/ kg BB (Christian K., *et al* 2019). Peneliti yang lain juga menyebutkan bahwa senyawa golongan sesquiterpene seperti *Germacrene D* menunjukkan efek sitotoksik dengan selektivitas tertinggi terhadap tumor dan sel sehat terutama pada sel HL-60 (*Human leukemia cells*) pada fraksi 6 dengan nila IC₅₀ untuk garis sel HCT (*Human Colon carnicoma*) dan HL-60 sebesar 4 gram/mL dan pada sel HFF (*Non tumorgenic human cell line*) sel 12 gram/mL (Erica *et al.*, 2012). Peneliti lain juga menyebutkan minyak atrisi yang mengandung *Germacrene D* dan β -*caryophyllene* telah menunjukkan aktivitas sitotoksik pada sel H_s578T dan PC-3 line. Aktivitas sitotoksik yang kuat dipertimbangkan pada 90% mematikan

pada konsentrasi 250 dan 100 ppm untuk keduanya sel karsinoma payudara prostat (Salvador *et al.*, 2011)

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1. Kesimpulan

Berdasarkan hasil pengujian aktivitas antipiretik minyak atsiri dan ekstrak etanol daun kirinyuh (*Chromolaena odorata* L.) terhadap mencit, minyak atsiri dan ekstrak etanol residu daun kirinyuh memiliki aktivitas antipiretik. Minyak atsiri juga memiliki nilai LD₅₀ pada mencit jantan 2685,96 mg/kg BB dan pada mencit betina 2872,10 mg/kg BB masuk pada kategori “Toksik Ringan”

5.2. Saran

- a. Pada penelitian selanjutnya perlu dilakukan uji histopatologi lebih lanjut mengenai antipiretik juga uji toksisitas.
- b. Perlu dilakukan penelitian mengenai senyawa spesifik yang bekerja sebagai antipiretik pada minyak atsiri daun kirinyuh