

## **UJI TOKSISITAS OBAT NYAMUK BAKAR HERBAL BERBAHAN EKSTRAK DAUN PERMOT (*PASSIFLORA FOETIDA*) : KAJIAN HISTOPATOLOGIS HATI DAN GINJAL MENCIT**

**Rina Priastini Susilowati**

<sup>1</sup>Bagian Biologi, Fakultas Kedokteran Universitas Kristen Krida Wacana Jakarta

E-mail korespondensi: rinapriastini67@gmail.com

**Abstrak:** *Aedes aegypti* adalah nyamuk yang berperan sebagai vector penyakit demam berdarah dengue (DBD). Salah satu upaya untuk mengendalikan populasi *Aedes aegypti* menurunkan angka kematian karena penyakit DBD melalui pemanfaatan bioinsektisida. Ekstrak biji krisan yaitu piretrin telah banyak digunakan sebagai bahan dasar obat nyamuk bakar, sedangkan ekstrak daun permot (*Passiflora foetida*) belum banyak diteliti dan dimanfaatkan sebagai salah satu bahan aktif obat nyamuk. Uji toksisitas obat nyamuk bakar berbahan ekstrak daun permot (*Passiflora foetida*) dilakukan pada hewan mencit jantan (*Mus musculus*). Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui efek organ hati dan ginjal mencit jantan yang diberi paparan obat nyamuk bakar berbahan ekstrak daun permot. Satu kelompok kontrol (tanpa paparan obat nyamuk bakar) dan lima kelompok perlakuan paparan obat nyamuk bakar berbahan ekstrak daun permot dengan dosis 500 ppm, 1000 ppm, 2000 ppm, 3000 ppm dan 4000 ppm. Sediaan hati dan ginjal dibaca dan dianalisis dengan menggunakan mikroskop cahaya pembesaran 400x untuk melihat perubahan gambaran histopatologisnya. Data dianalisis dengan uji Anova dilanjutkan dengan uji Post Hoc bila berdistribusi normal atau dengan uji Kruskal Wallis yang dilanjutkan dengan uji Mann Whitney bila tidak berdistribusi normal. Tidak ada mencit yang mati maupun menunjukkan gejala toksik seperti hiperagresifitas maupun kepasifan setelah paparan obat nyamuk bakar berbahan ekstrak daun permot. Secara histopatologis pemberian paparan obat nyamuk bakar berbahan ekstrak daun permot dosis 500 ppm hingga 3000 ppm tidak menunjukkan kerusakan jaringan di hati maupun ginjal seperti halnya kelompok kontrol, sedangkan dosis 4000 ppm menyebabkan hati dan ginjal mencit jantan mengalami nekrosis sel parenkim.

**Kata Kunci:** toksisitas, daun permot, histopatologis, hati, ginjal

### **PENDAHULUAN**

Demam Berdarah Dengue (DBD) atau *Dengue Haemorrhagic Fever* (DHF) adalah suatu penyakit yang disebabkan oleh virus Dengue Famili Flaviviridae dengan genusnya adalah Flavivirus RNA Togavirus. Virus ini mempunyai empat serotipe yang dikenal dengan DEN-1, DEN-2, DEN-3 dan DEN-4. Selama ini secara klinis mempunyai tingkatan manifestasi yang berbeda, bergantung dari serotipe virus Dengue. DBD ditularkan melalui nyamuk *Aedes aegypti* yang dapat menyebabkan gangguan pada manusia karena kebiasaannya menggigit dan menghisap darah (Pinto dan Filipe, 1973; Tolle, 2009).

Sebagai salah satu upaya memutus mata rantai penyebaran *Aedes aegypti* tersebut adalah dengan cara pengendalian vektor dengan dua cara yaitu cara kimia dan pengelolaan lingkungan. Selama ini pengendalian *Aedes aegypti* umumnya dilakukan dengan menggunakan insektisida sintetik. Hal ini dikarenakan insektisida sintetik dianggap efektif, praktis, manjur dan dari segi ekonomi lebih menguntungkan. Namun, hal ini perlu diwaspadai karena penggunaan insektisida sintetik secara terus menerus akan menimbulkan pencemaran lingkungan, kematian berbagai macam makhluk hidup lain dan menyebabkan serangga menjadi resisten, bahkan dapat menyebabkan mutasi gen pada spesies ini. Metcalf dan Luckmann (1982) menyatakan bahwa insektisida sintetik bersifat bioaktif, mengandung bahan kimia yang sukar mengalami degradasi di alam sehingga residunya dapat mencemari lingkungan dan dapat menurunkan kualitas lingkungan. Disamping itu, paparan insektisida sintetik ke dalam rantai makanan dapat menyebabkan kematian beberapa makhluk hidup lain yang bukan sasaran dan akhirnya akan mengacaukan keseimbangan ekosistem. Meskipun sebelum diproduksi insektisida sintetik telah menjalani pengujian yang sangat ketat meliputi syarat-syarat keselamatannya, akan tetapi karena bersifat bioaktif maka insektisida sintetik tetap merupakan racun, dimana setiap racun selalu menimbulkan dampak yang merugikan bagi manusia maupun lingkungan.

Salah satu pengendalian secara kimiawi adalah penggunaan obat nyamuk bakar (ONB). ONB termasuk bahan penghasil asap berinsektisida yang banyak digunakan untuk mengurangi gigitan nyamuk dan mengurangi kepadatan nyamuk baik oleh peneliti maupun masyarakat. Obat nyamuk bakar termasuk yang mudah digunakan, efektif dan murah (Rozendaal, 1997). Selain itu, Wigati (2006) menyatakan bahwa obat nyamuk bakar dapat dimanfaatkan untuk perlindungan diri dari gigitan nyamuk termasuk *Aedes aegypti* yang merupakan vektor demam berdarah.

Melihat kerugian berupa efek samping yang ditimbulkan oleh insektisida sintetik tersebut maka dibutuhkan suatu usaha untuk mendapatkan bahan alternatif yang lebih ramah lingkungan tetapi juga efektif dalam mengendalikan populasi nyamuk khususnya *Aedes aegypti*. Penggunaan insektisida botani atau bioinsektisida sebagai pengganti insektisida sintetik nantinya diharapkan dapat mengurangi masalah pencemaran lingkungan. Hal ini disebabkan karena penggunaan insektisida hayati (bioinsektisida) tidak menimbulkan pencemaran lingkungan, dimana insektisida hayati mengandung bahan yang mudah dan cepat terdegradasi di alam serta tidak menimbulkan residu berbahaya bagi lingkungan, baik pada hewan maupun manusia. Hal ini juga dinyatakan oleh Syahputra (2001) bahwa insektisida hayati memiliki sifat yang tidak stabil dan memungkinkan untuk dapat didegradasi secara alami sehingga tidak berbahaya bagi manusia dan lingkungan.

Salah satu tanaman obat yang diduga mengandung bahan aktif yang dapat digunakan sebagai bioinsektisida adalah tanaman permot (*Passiflora foetida*). Permot adalah bagian dari kekayaan tanaman Indonesia yang tumbuh secara liar dan terdapat dalam jumlah yang melimpah. Tanaman permot dapat secara mudah dijumpai di tanah lapang, sawah, kebun atau tumbuh merambat di sela tanaman utama yang sengaja ditanam, dipagar dan juga merambat pada dinding sehingga tanaman ini biasa dibersihkan, dibakar atau dibuang begitu saja.

## **METODE PENELITIAN**

Hewan coba yang digunakan dalam penelitian ini adalah mencit jantan galur Balb C dengan kriteria sebagai berikut : usia dewasa kelamin, mempunyai berat antara 25-35 gram dimana keadaan mencit sehat tanpa kelainan anatomis. Mencit dibagi dalam kelompok perlakuan secara acak menjadi 1 kelompok kontrol dan 5 kelompok perlakuan paparan asap obat nyamuk bakar berbahan ekstrak daun permot, masing-masing terdiri dari 5 mencit. Setelah dilakukan adaptasi selama 7 hari, mencit kemudian mendapat perlakuan paparan asap obat nyamuk bakar selama 12 minggu.

Kelompok P<sub>0</sub> : kelompok kontrol (tanpa paparan asap obat nyamuk bakar), P<sub>1</sub> : paparan asap obat nyamuk bakar 500 ppm, P<sub>2</sub> : paparan asap obat nyamuk bakar 1000 ppm, P<sub>3</sub> : paparan asap obat nyamuk bakar 2000 ppm, P<sub>4</sub> : paparan asap obat nyamuk bakar 3000 ppm, P<sub>5</sub> : paparan asap obat nyamuk bakar 4000 ppm.

Proses ekstraksi daun permot yaitu daun permot dikeringkan dengan cara mengangin-anginkan dan tidak terkena sinar matahari secara langsung selama 3-4 hari. Setelah kering bahan tersebut digiling sampai menjadi serbuk halus. Serbuk yang sudah dihaluskan sejumlah 1 kg dimasukkan dalam bejana dan dituangi dengan pelarut etanol 96% sampai terendam dan dibiarkan selama 3 hari. Hasil rendaman kemudian disaring dengan bantuan pompa hisap. Ampas atau filtrat yang diperoleh kemudian dimaserasi ulang dengan pelarut etanol 96% yang baru dan dibiarkan selama 24 jam. Ekstrak cair yang diperoleh diuapkan dengan evaporator pada suhu 4°C sampai diperoleh ekstrak kental.

Selama 24 jam pertama, semua mencit diamati secara seksama, meliputi apakah ada mencit yang mati, perubahan tingkah laku seperti mencit menjadi agresif atau diam saja. Pengamatan dilanjutkan hingga minggu ke 12, jika terdapat mencit yang mati maka segera dilakukan pembedahan untuk mendapatkan organ hati dan ginjal kemudian disimpan dalam larutan buffer formalin. Pada minggu ke 13 semua mencit dikorbankan kemudian diambil hati dan ginjalnya untuk dibuat preparat histopatologis. Preparat histopatologis hati dan ginjal kemudian diamati di bawah mikroskop untuk melihat apakah terjadi perubahan histopatologisnya akibat paparan asap obat nyamuk bakar berbahan ekstrak daun permot.

## **HASIL DAN PEMBAHASAN**

Setelah 12 minggu masa perlakuan paparan asap obat nyamuk bakar berbahan ekstrak daun permot, tidak ada mencit yang mati dan tidak memperlihatkan perubahan perilaku dari mencit. Dengan tidak adanya mencit yang mati selama 12 minggu masa perlakuan, hal ini menunjukkan bahwa sesuai dengan kriteria OECD, LD50 obat nyamuk bakar berbahan ekstrak daun permot lebih dari 4000 ppm tidak bersifat toksik.

#### **u. Perubahan Histopatologi Hati**

Salah satu zat yang memiliki diduga bersifat toksik karena mampu membunuh nyamuk *Aedes aegypti* adalah ekstrak daun permot yang ada dalam bentuk coil obat nyamuk bakar. Berdasarkan hal tersebut, apabila hati terpapar bahan yang bersifat toksik, maka akan menyebabkan kerusakan sel hati. Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan dengan pemberian paparan obat nyamuk bakar berbahan ekstrak daun permot dosis bertingkat didapatkan hasil yang berbeda-beda untuk semua kelompok. Hasil yang didapatkan antara kelompok kontrol maupun semua kelompok perlakuan memiliki perbedaan berdasarkan pengamatan di bawah mikroskop.

Paparan asap obat nyamuk bakar berbahan ekstrak daun permot menyebabkan degenerasi hidropik dimana degenerasi hidropik menyebabkan adanya akumulasi cairan dalam sel sehingga volume hati mengalami peningkatan (Gambar 1b).

Organ hati setelah melalui pemeriksaan histopatologi memperlihatkan kerusakan berupa nekrosis (Gambar 1d), kongesti (Gambar 1c) dan radang pada kelompok paparan asap obat nyamuk bakar 4000 ppm. Nekrosis merupakan kematian sel atau jaringan pada organisme hidup (Underwood, 1999). Peristiwa ini ditandai dengan inti sel yang mengkerut dan menjadi gelap sampai tidak ada lagi eukromatin (piknosis), kemudian terfragmentasi (karioreksis), kemudian menghilang (kariolisis). Nekrosis hati dapat terjadi secara spontan pada hewan uji setelah pemberian agen terapeutik dosis tinggi. Hal ini disebabkan mekanisme tidak langsung seperti anoksia pada jaringan yang disebabkan kesalahan pada sirkulasi dan biliari stasis. Nekrosis berdasarkan tempat terjadinya ada dua macam, yaitu zonal (pada daerah tertentu, misalnya sentrolobular, mid-zonal atau periportal, konfluen, masif) dan pada hepatosit tunggal (nekrosis pada satu sel atau satu jenis sel).

Hasil pengamatan menunjukkan nekrosis organ hati yang terjadi adalah nekrosis sentrolobular. Nekrosis sentrolobular dapat disebabkan oleh gangguan peredaran darah hepatis yang ditandai dengan hepatosit yang menunjukkan eosinofilia, diikuti dengan kongesti dan inflamasi (Graves, 2000). Menurut Ressang (1984) nekrosis pada hati bisa juga disebabkan oleh pengaruh langsung agen yang bersifat toksik seperti zat kimia maupun toksin kuman (nekrosis toksopatik), atau karena kekurangan faktor-faktor yang sangat diperlukan sel seperti oksigen dan zat-zat makanan (nekrosis trofoatik).

Dosis dan lama pemberian bahan aktif ekstrak daun permot yang terdapat di dalam obat nyamuk bakar dapat menyebabkan kerusakan jaringan hati, terutama pada dosis 4000 ppm. Beberapa bahan aktif yang terdapat di dalam ekstrak daun permot antara lain mengandung flavonoid, harmaline, harmine, harmol, saponin, saponarin, sitosterol, scopoletin, stigmasterol, passifloracine (Wolfman dkk., 1984). Permot juga mengandung alkaloid dan setidaknya 10 flavonoid salah satunya adalah ermanin yang menyebabkan kematian pada *nymphalid butterfly Dione juno* (Echeverri dkk., 2001). Jadi ermanin inilah yang dapat menjadi pestisida yang baik untuk membunuh hama dan serangga yang kemungkinan juga bersifat toksik bagi hewan coba mencit pada penelitian ini.

#### **v. Perubahan Histopatologi Ginjal**

Pemeriksaan preparat histologis terhadap ginjal ditemukan peningkatan kerusakan pada ginjal seiring dengan meningkatnya dosis dan lama yang diberikan (Gambar 2b-d). Pada kelompok paparan obat nyamuk bakar dosis 500 ppm hingga 2000 ppm belum terlihat kerusakan pada organ seperti halnya pada kelompok kontrol, sedangkan pada kelompok paparan obat nyamuk bakar dosis 3000 ppm dan 4000 ppm sudah terlihat kerusakan yaitu pengecilan beberapa ruang bowman (Gambar 2b).

Salah satu bentuk kerusakan pada ginjal terlihat adanya penyempitan pada ruang Bowman. Penyempitan ruang Bowman disebabkan terjadinya peradangan glomerulus ataupun proliferasi dari epitel kapsul bowman (Price dan Wilson, 2005).

Organ ginjal hewan uji yang mengalami kongesti yaitu pada kelompok paparan obat nyamuk bakar dosis 4000 ppm. Kongesti adalah peningkatan cairan pada suatu tempat yang terjadi karena proses pasif yang disebabkan kegagalan aliran cairan keluar dari jaringan, misalnya pada kerusakan vena. Jika dilihat secara visual maka daerah jaringan atau organ yang mengalami kongesti akan berwarna lebih merah (ungu) dan secara mikroskopi kapiler-kapiler dalam jaringan melebar penuh berisi darah. Terdapat dua mekanisme timbulnya kongesti, yaitu kenaikan jumlah darah yang mengalir ke

daerah tersebut dan penurunan jumlah darah yang mengalir dari daerah tersebut. Kongesti dapat terjadi pada daerah yang mengalami peradangan (Greaves, 2000).

Berdasarkan data histopatologi tersebut, disimpulkan bahwa kongesti ginjal hewan uji disebabkan perlakuan dengan sediaan uji (Gambar 2c). Hal ini dibuktikan dengan tidak adanya hewan uji pada kelompok kontrol yang mengalami kongesti pada organ ginjal (Gambar 2a).

Kongesti terjadi hanya pada kelompok paparan obat nyamuk bakar dosis 4000 ppm, sedangkan pada kelompok paparan obat nyamuk bakar dosis 500 ppm, 1000 ppm, 2000 ppm dan 3000 ppm tidak terjadi kongesti. Dengan demikian adanya kenaikan peringkat dosis sediaan uji kemungkinan akan memperkuat terjadinya kongesti. Selain itu juga terjadi nekrosis pada sel (Gambar 2d).

Seperti halnya pada perubahan histopatologis hati, dosis dan lama pemberian bahan aktif ekstrak daun permot yang terdapat di dalam obat nyamuk bakar dapat menyebabkan kerusakan jaringan ginjal, terutama pada dosis 4000 ppm.

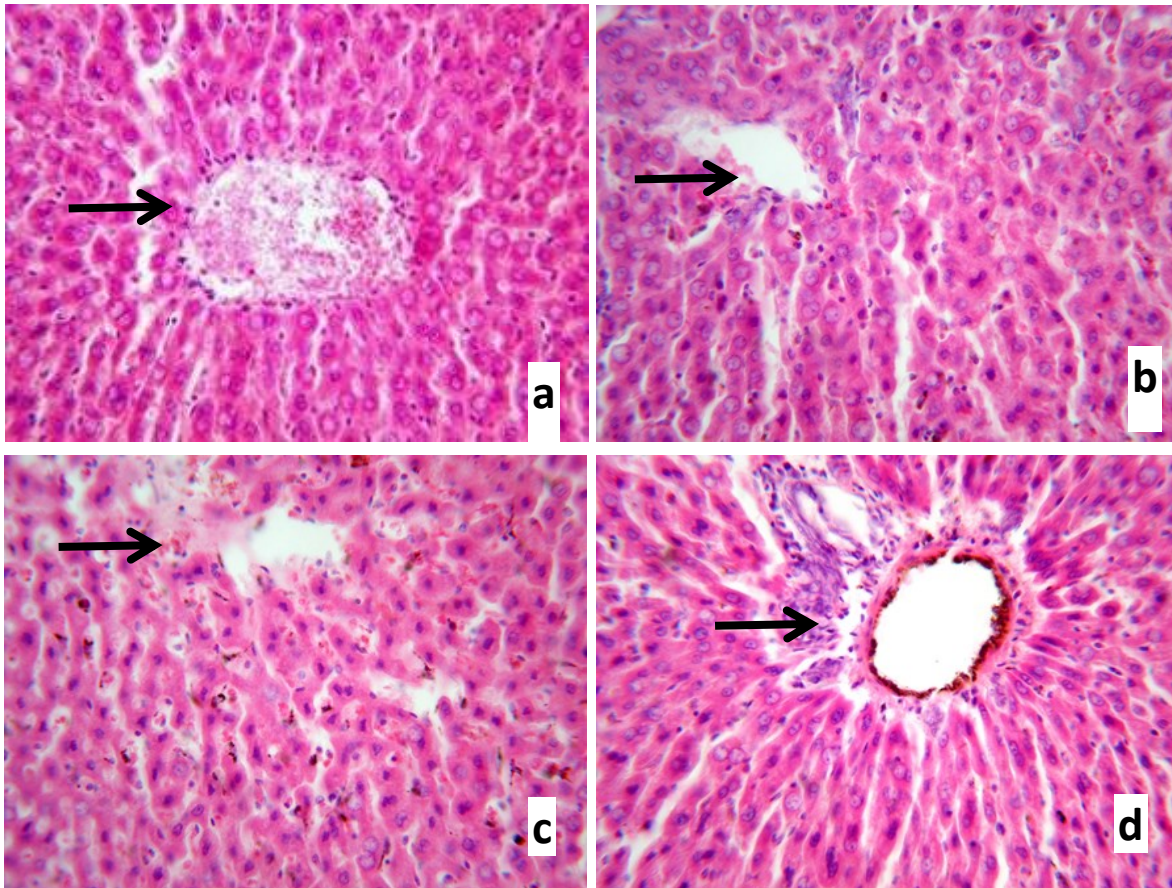
## SIMPULAN

Dari hasil penelitian yang telah dilakukan maka dapat disimpulkan bahwa obat nyamuk bakar berbahan ekstrak daun permot kurang dari 4000 ppm tidak bersifat toksik atau aman digunakan untuk membunuh nyamuk *Aedes aegypti*.

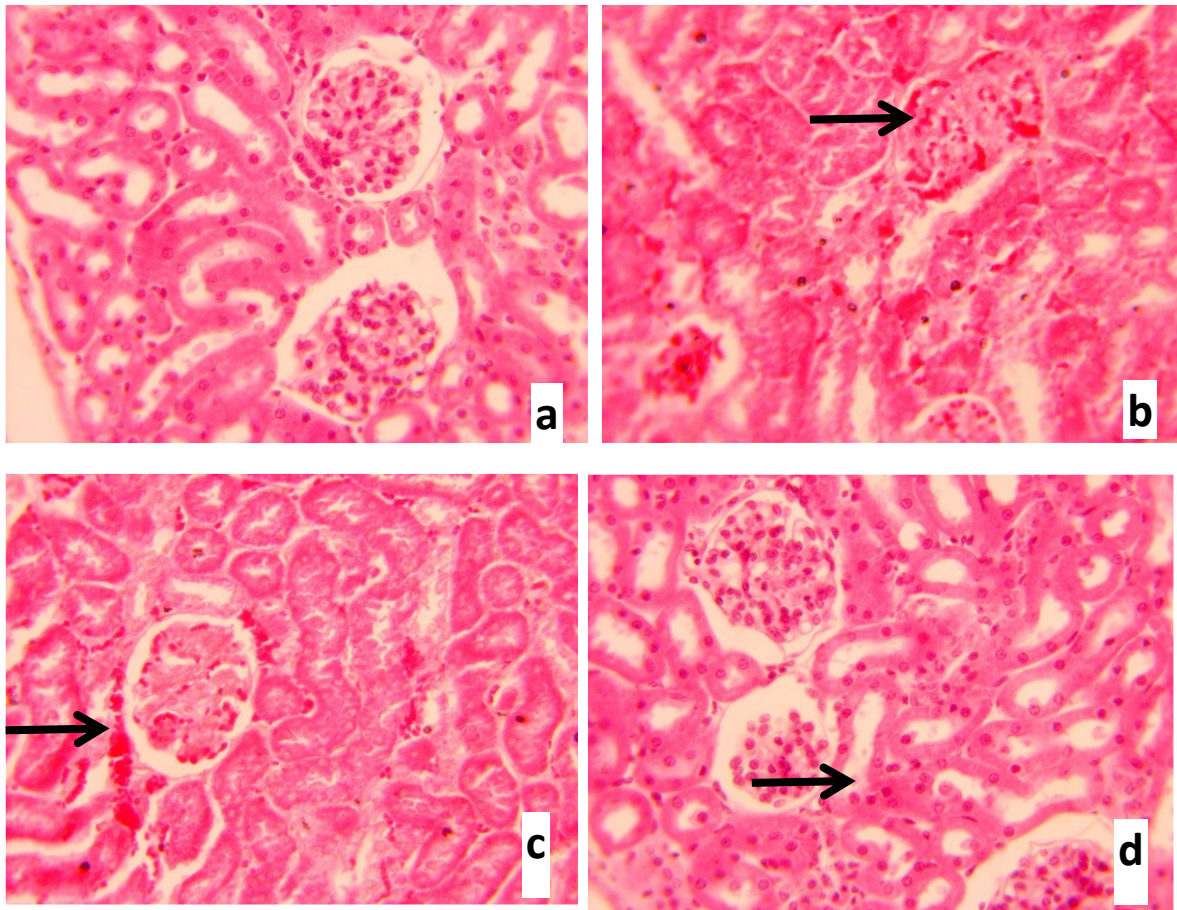
## DAFTAR PUSTAKA

- Echeverri, F., Arango, V., Quinones, W., Torres, F., Escobar, G., Rosero, Y., Archbold, R. (2001). Passifloricins, Polyketides Alpha-pyrone from *Passiflora foetida* Resin. *Phytochemistry*, 56(8) : 881-885.
- Greaves, P. (2000). *Histopathology of Preclinical Toxicity Studies Interpretation and Relevance in Drug Safety Evaluation*. Second Edition. p. 372-380. Amsterdam : Elsevier.
- Metcalf, R.L., Luckmann, W.H. (1982). *Introduction to Insect Pest Management*. New York : John Wiley and Sons.
- Pinto, M.R., Filipe, A.R. (1973). Arbovirus Studies in Luanda, Angola. 1. Virological and Serological Studies During a Yellow Fever Epidemic. *Bulletin World Health Organization*. 49 : 31-35.
- Price, S. A., Wilson, L. M. (2005). *Patofisiologi Konsep Klinis Proses-Proses Penyakit*. Hal. 472-479. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Ressang, A.A. (1984). *Buku Pelajaran Patologis Khusus Veteriner*. Edisi II, 53, 54 240, 246. Denpasar : Bali Cattle Disease Investigation Unit.
- Rozendaal, J.A. (1997). *Vector Control, Method For Use by Individuals and Communities*. Geneva : World Health Organization.
- Syahputra, E. (2001). Hutan Kalbar Sumber Pestisida Botani : Dulu, Kini dan Kelak. Diakses dari <http://rudycr.tripod.com>.
- Tolle, M.A. (2009). Mosquito-Borne Diseases. *Current Problematic Pediatrics Adolescence Health Care*. 39 : 97-140.
- Wigati, R.A. (2006). Inkriminasi Nyamuk *Anopheles vagus* donitz 1902 (Diptera : Culicidae) Sebagai Vektor Malaria di Kecamatan Kokap Kabupaten Kulon Progo Provinsi Daerah Istimewa Yogyakarta. Yogyakarta : Penelitian Pascasarjana Ilmu-Ilmu Kesehatan, Universitas Gadjah Mada.
- Wolfman, C., Viola, H., Paladini, A.C., Dajas, D., Medina, J.H. (1994). Possible Anxiolytic Effects of Chrysin, a Central Benzodiazepine Receptor Ligand Isolated from *Passiflora coerulea*. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 47 : 1-4.





Gambar 1. Potongan melintang hati mencit jantan dengan pewarnaan HE dan pembesaran 400x, (a) Gambaran sel-sel hati normal pada kelompok kontrol tanpa perlakuan, (b) Histopatologi hati terjadi degenerasi hidropik pada kelompok P<sub>5</sub>, (c) Histopatologi hati terjadi kongesti pada kelompok P<sub>5</sub>, (d) Histopatologi hati terjadi nekrosis pada kelompok P<sub>5</sub>



Gambar 2. Potongan melintang ginjal mencit jantan dengan pewarnaan HE dan pembesaran 400x, (a) Gambaran sel-sel ginjal normal pada kelompok kontrol tanpa perlakuan, (b) Histopatologi ginjal terjadi penyempitan kapsula Bowman pada kelompok P<sub>5</sub>, (c) Histopatologi ginjal terjadi kongesti pada kelompok P<sub>5</sub>, (d) Histopatologi ginjal terjadi nekrosis pada