



LAPORAN AKHIR PENELITIAN KARYA TULIS ILMIAH

UJI TOKSISITAS AKUT PENENTUAN LD50 EKSTRAK VALERIAN

(Valeriana officinalis) TERHADAP MENCIT BALB/C

Diajukan untuk Memenuhi Tugas dan Melengkapi Persyaratan
dalam Menempuh Program Pendidikan Sarjana
Fakultas Kedokteran

Disusun Oleh :

DANANG DWI ATMOJO

G2A 005 045

BAGIAN FARMAKOLOGI

FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS DIPONEGORO

SEMARANG

2009

HALAMAN PERSETUJUAN

Nama : Danang Dwi Atmojo
NIM : G2A005045
Fakultas : Kedokteran Umum
Universitas : Diponegoro
Tingkat : Program Pendidikan Sarjana
Judul : UJI TOKSISITAS AKUT PENENTUAN LD₅₀ EKSTRAK
VALERIAN (*Valeriana officinalis*) PADA MENCIT BALB/C
Bagian : Farmakologi
Pembimbing : dr. Noor Wijayahadi, M.kes, Ph.D

Diajukan untuk memenuhi tugas dan melengkapi syarat dalam menempuh Program Pendidikan Sarjana

Semarang, 24 Agustus 2009

Pembimbing

dr. Noor Wijayahadi, M.kes, Ph.D

NIP. 132 149 104

HALAMAN PENGESAHAN
LAPORAN AKHIR KARYA TULIS ILMIAH
UJI TOKSISITAS AKUT PENENTUAN LD₅₀ EKSTRAK
VALERIAN (*Valeriana officinalis*) PADA MENCIT BALB/C

disusun oleh:

Danang Dwi Atmojo

G2A005 045

Telah diuji dan dipertahankan di hadapan Tim Penguji Karya Tulis Ilmiah
Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro pada tanggal 19 Agustus 2009 dan
telah diperbaiki sesuai saran – saran yang diberikan.

Semarang, 24 Agustus 2009

TIM PENGUJI PROPOSAL

Ketua Penguji

Penguji

dr. Udadi Sadhana, M.Kes, Sp.PA
NIP. 131 967 650

dr. Awal Prasetyo, M.kes, Sp.THT-KL
NIP. 132 163 893

Pembimbing

dr. Noor Wijayahadi, M.kes, Ph.D
NIP. 132 149 104

Daftar Isi

| | |
|---------------------------------------|----------|
| Halaman Persetujuan | i |
| Halaman Pengesahan | ii |
| Daftar Isi..... | i |
| Daftar Lampiran..... | vi |
| Daftar Tabel..... | vii |
| Abstrak | viii |
| BAB I. PENDAHULUAN | 1 |
| 1.1. Latar Belakang | 1 |
| 1.2. Perumusan Masalah..... | 2 |
| 1.3. Tujuan Penelitian | 2 |
| 1.3.1. Tujuan Umum | 2 |
| 1.3.2. Tujuan Khusus..... | 3 |
| 1.4. Manfaat Penelitian..... | 3 |
| BAB II. TINJAUAN PUSTAKA | 4 |
| 2.1. Valerian | 4 |
| 2.1.1. Klasifikasi | 4 |
| 2.1.2. Morfologi | 4 |
| 2.1.3 Khasiat | 5 |
| 2.1.4 Kandungan Kimia..... | 6 |
| 2.2.Uji Toksisitas | 7 |
| 2.2.1. Definisi..... | 7 |
| 2.2.2 Tujuan..... | 7 |

| | |
|---|-----------|
| 2.2.3. Hewan Coba | 7 |
| 2.2.4. Perlakuan Hewan Coba..... | 8 |
| 2.2.5. Cara Pemberian | 9 |
| 2.2.6. Pengamatan | 10 |
| 2.2.7. Analisa dan Evaluasi Hasil | 10 |
| 2.3. Lethal Dose 50 | 11 |
| 2.4. Kerangka Teori | 14 |
| 2.5. Kerangka Konsep | 15 |
| 2.6. Hipotesis | 15 |
| BAB III. METODE PENELITIAN | 16 |
| 3.1 Ruang Lingkup Penelitian | 16 |
| 3.2 Jenis Penelitian..... | 16 |
| 3.3 Populasi dan Sampel | 16 |
| 3.3.1. Populasi..... | 16 |
| 3.3.2 Sampel | 17 |
| 3.3.3 Kriteria inklusi | 17 |
| 3.3.4. Kriteria eksklusi | 17 |
| 3.4. Variabel Penelitian | 17 |
| 3.5. Alat dan bahan | 18 |
| 3.5.1. Alat Penelitian..... | 18 |
| 3.5.2. Bahan Penelitian..... | 18 |
| 3.6. Data yang Dikumpulkan..... | 18 |
| 3.7. Cara kerja..... | 19 |

| | |
|---|-----------|
| 3.7.1. Aklimatisasi | 19 |
| 3.7.2. Randomisasi | 19 |
| 3.8. Alur penelitian | 21 |
| 3.9. Prosedur Pengamatan | 22 |
| 3.10. Definisi operasional..... | 22 |
| 3.11. Analisa Data..... | 22 |
| BAB IV. HASIL | 23 |
| 4.1. Analisa Hasil..... | 23 |
| 4.2. Analisa Deskriptif | 23 |
| BAB V. PEMBAHASAN | 25 |
| BAB VI. KESIMPULAN DAN SARAN | 27 |
| 6.1 Kesimpulan | 27 |
| 6.2 Saran..... | 27 |
| DAFTAR PUSTAKA | 28 |
| LAMPIRAN | 31 |

DAFTAR LAMPIRAN

- Lampiran 1 Daftar Pemeriksaan Fisik dan Pengamatan Hewan
dalam Uji Toksisitas (Loomis 1978)

DAFTAR TABEL

| | |
|---------------------|--|
| Tabel 1 | Potensi ketoksikan akut senyawa uji berdasarkan Kriteria Loomis (1978) |
| Tabel 2 valerian | Jumlah mencit mati 7 hari setelah pemberian ekstrak dosis tunggal |
| Tabel 3 | Hasil pengamatan gejala toksik 24 jam setelah pemberian ekstrak valerian dosis tunggal |

ACUTE TOXICITY TEST LD₅₀ VALUE OF VALERIAN (*Valeriana officinalis*) ON BALB/C MICE

Danang Dwi Atmojo*, Noor Wijayahadi**

ABSTRACT

Background: An acute toxicity test is a pra-clinic test to determine level of toxicity of a substance in a period time after single dose distribution. The quantitative standar to measure lethal dose of acute toxicity test is LD₅₀. Valerian is a sedative herb. A herbal must undergo some tests due to its safety, so does valerian. Considering the potentation of valerian as an effective herb for sleeping disorder, act of determining LD₅₀ of valerian is important.

Objective: This research was done to determine the acute toxicity effect of valerian extract, and to observe the acute toxic symptom of valerian distribution.

Metode: This research was an experimental study used post test only control group design. The experimental objects were 25 Balb/C male mices which had inclusion criterias such as 2 – 3 months old; weight 25 – 35 gram; normal activity; no anatomy anomaly. Twenty-five Balb/C mice samples were divided into 5 groups, 5 mices for each group, including 1 control and four experimental groups. The valerian extract dosage that was given for each group were 5 mg/KgBB; 50 mg/KgBB; 500 mg/KgBB; and 2000 mg/KgBB. The symptom of toxicity were observed in 24 hours, and the death of subjects were evaluated in 7 days.

Result: This research obtained no death mice. The decreasing of locomotor system was the only symptom of toxicity that had been obtained.

Conclusion: LD₅₀ of valerian extract ekstrak was “Practicaly Non Toxic” based on Loomis (1978) criteria.

Key words: *Valeriana officinalis*, LD₅₀, Balb/C.

* Undergraduated Student, Medical Faculty of Diponegoro University, Semarang

** Lecturer, Department of Pharmacology and Therapy, Medical Faculty of Diponegoro University, Semarang

UJI TOKSISITAS AKUT PENENTUAN LD₅₀ EKSTRAK VALERIAN (*Valeriana officinalis*) TERHADAP MENCIT BALB/C

Danang Dwi Atmojo*, Noor Wijayahadi**

ABSTRAK

Latar belakang: Uji toksisitas akut merupakan uji pra klinik yang bertujuan mengukur derajat efek toksik suatu senyawa dalam waktu tertentu setelah pemberian dosis tunggal. Tolak ukur kuantitatif yang sering digunakan untuk menyatakan kisaran dosis letal pada uji toksisitas akut adalah LD₅₀. Valerian adalah tanaman obat yang memiliki sifat sedatif pada susunan saraf pusat. Tanaman obat harus melalui berbagai proses uji untuk keamanan konsumsinya, salah satunya uji toksisitas akut. Oleh karena itu, penentuan LD₅₀ penting untuk menilai potensi ketoksikan akut ekstrak valerian.

Tujuan: Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui efek toksisitas akut ekstrak valerian (*Valeriana officinalis*) yang diukur secara kuantitatif dengan LD₅₀ serta mengamati gejala toksik akut pemberian valerian.

Metode: Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental menggunakan *post test only control group design*. Objek uji berupa 25 mencit strain Balb/C jantan yang diperoleh dari Unit Pemeliharaan Hewan Percobaan (UPHP) Yogyakarta yang mempunyai kriteria inklusi berupa rentang umur 2 – 3 bulan, berat 25 – 35 gram, tingkah laku dan aktivitas normal, dan tidak ada kelainan anatomis yang tampak. Objek uji dibagi dalam 5 kelompok yaitu satu kontrol, dan empat perlakuan (empat peringkat dosis 5 mg/KgBB; 50 mg/KgBB; 500 mg/KgBB; dan 2000 mg/KgBB). Pengamatan gejala toksik dilakukan selama 24 jam, sedangkan jumlah hewan mati selama 7 hari.

Hasil: Tidak didapatkan mencit mati pada penelitian ini. Pada pengamatan gejala toksik tidak didapatkan gejala lain selain perubahan fungsi lokomotor yang menurun.

Kesimpulan: LD₅₀ ekstrak valerian termasuk "Praktis Tidak Toksik" dalam kriteria Loomis (1978).

Kata Kunci: *Valeriana officinalis*, LD₅₀, mencit Balb/C.

* Mahasiswa, Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro, Semarang
** Staf Pengajar, Bagian Farmakologi dan Terapi Fakultas Kedokteran
Universitas Diponegoro, Semarang

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang Masalah

Uji toksisitas akut merupakan salah satu uji pra-klinik. Uji ini dilakukan untuk mengukur derajat efek toksik suatu senyawa yang terjadi dalam waktu singkat, yaitu 24 jam, setelah pemberiannya dalam dosis tunggal. Dosis letal tengah (LD_{50}) adalah tolak ukur kuantitatif yang paling sering digunakan untuk menyatakan kisaran dosis letal atau toksik. Terdapat 3 metode yang paling sering digunakan untuk menghitung harga LD_{50} yaitu metode grafik Lithfield & Wilcoxon, metode kertas grafik probit logaritma Miller dan Tainter, dan metode rata – rata bergerak Thompson-Weil yang pada didasarkan pada kekerabatan antara peringkat dosis dan % hewan yang menunjukkan respon¹.

Valerian adalah tanaman obat yang memiliki sifat sedatif pada susunan saraf pusat. Obat ini juga mempunyai efek mengurangi rasa nyeri (analgesik) dan menginduksi tidur². Pada dasarnya belum diketahui secara pasti satu kandungan kimia dari valerian yang dapat menginduksi tidur. Kemungkinan efek tersebut timbul dari interaksi sinergis dari berbagai zat kimia yang terkandung di dalamnya².

Adriane Fugh-Berman menulis dalam buku-elektroniknya yang berjudul "The 5-Minute Herb and Dietary Supplement Clinical Consult", menyebutkan

LD₅₀ ekstrak valerian yang diberikan secara intra-peritoneal pada mencit sebesar 3300 g/KgBB³. Penulis lain bernama Peter J. Houghton menyebutkan LD50 ekstrak valerian lebih dari 5000mg/KgBB⁴. Kedua penulis sepakat bahwa ekstrak valerian termasuk praktis tidak toksik.

Penggunaan tanaman obat tentunya harus melalui serangkaian uji, seperti uji khasiat, toksisitas dan uji klinik; begitu pula dengan valerian¹. Penelitian terdahulu telah membuktikan bahwa valerian merupakan tanaman obat yang aman, namun kandungan senyawa suatu tanaman yang sama (satu spesies) di lain tempat dapat berbeda. Penulis tertarik untuk melakukan uji toksisitas akut ekstrak valerian dengan dasar tersebut dan ingin membuktikan bahwa daya ketoksikan akut valerian termasuk dalam kriteria "Praktis Tidak Toksik".

Penelitian ini dilakukan secara *in vivo*, menggunakan hewan coba mencit Balb/c dengan paparan tunggal dosis bertingkat. Peneliti mengamati jumlah hewan yang mati serta gejala klinis pada 24 jam pertama pemberian ekstrak valerian.

1.2 Perumusan Masalah

Apakah ekstrak valerian (*Valeriana officinalis*) yang diuji pada mencit Balb/C termasuk dalam kriteria "Praktis Tidak Toksik" berdasarkan kriteria Loomis?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek toksisitas akut ekstrak Valerian (*Valeriana officinalis*) yang diukur secara kuantitatif dengan LD₅₀.

1.3.2 Tujuan Khusus

Menentukan nilai dosis ekstrak Valerian (*Valeriana officinalis*) yang mengakibatkan kematian 50% populasi mencit

1.4 Manfaat Penelitian

Hasil Penelitian ini diharapkan dapat memberikan manfaat:

- a. Sebagai bahan informasi penelitian lebih lanjut mengenai toksisitas akut pemberian ekstrak Valerian (*Valeriana officinalis*) terhadap mencit Balb/c.
- b. Sebagai dasar evaluasi keamanan perancangan klinik.
- c. Untuk memperkirakan risiko penggunaan ekstrak Valerian (*Valeriana officinalis*) oleh atau pemajannya pada diri manusia.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Valerian (*Valeriana officinalis*)

2.1.1 Klasifikasi⁵

Dunia : Plantae
Divisi : Spermatophyta
Sub divisi : Angiospermae
Kelas : Dicotyledoneae
Bangsa : Rubiales
Suku : Valerianaceae
Marga : Valeriana
Jenis : *Valeriana officinalis*

Nama umum/dagang: Valerian

Nama daerah: ²

Indonesia : Valerian
Inggris : Setwall
Jerman : Baldrianwurzel
Yunani : Phu

2.1.2 Morfologi

Valerian merupakan tanaman yang mempunyai tinggi kurang lebih 60cm. Batangnya bulat, lunak, tegak, berwarna hijau pucat dengan permukaan yang licin. Daun Valerian majemuk, lonjong, panjangnya 2 – 4 cm, lebar 1 – 2 cm, tepi berkuncup, ujung dan pangkal meruncing, permukaan berkerut dan berwarna hijau. Perbungaan majemuk, berbentuk seperti tandan, silindris di ujung batang, bertangkai hijau, bulat, dengan panjang 5 – 10 cm. Kelopak bunga berwarna hijau muda dengan mahkota halus putih dan terkadang merah muda, benang sari berwarna putih, bertangkai silindris, dengan panjang 0,2 – 0,4 cm, kepala sari berwarna abu – abu, pipih, putik putih, bertangkai, dengan panjang 0,3 – 0,4 cm. Buah valerian berupa buni, cokelat, lonjong. Bijinya bulat, berwarna hitam. Akarnya tunggang, berwarna cokelat⁵.

2.1.3 Khasiat

Valerian dimanfaatkan sebagai obat herbal maupun suplemen⁶. Bagian dari tanaman valerian yang dimanfaatkan adalah bagian akar^{2,6,7,8}, baik berupa rhizome (akar yang berada di bawah tanah) maupun stolon (akar yang menjulur secara horizontal)².

Valerian banyak digunakan di Amerika, Eropa, maupun Asia sebagai obat insomnia^{7,12,13}, karena valerian memiliki efek sedatif^{2,6,7,8,9,10}. Efek sedatif merupakan efek yang paling utama dari ekstrak valerian⁸. Pada dasarnya, belum diketahui secara pasti zat kimia tunggal yang bertanggung jawab untuk efek ini. Kemungkinan efek ini terjadi akibat

interaksi dari beberapa bahan kimia yang terkandung di dalam akar valerian secara sinergis. Ada suatu kemungkinan efek terjadi akibat meningkatnya jumlah asam Gamma AminoButyric (GABA – suatu neurotransmitter inhibitor) pada celah sinaps yang dipengaruhi oleh valerian. Studi yang dilakukan dengan menggunakan *synaptosome* membuktikan bahwa valerian meningkatkan produksi GABA di akhiran saraf dan mencegahnya untuk di-*re-uptake*. Didapatkan pula bukti bahwa asam valerinat mencegah pembentukan enzim yang menghancurkan GABA².

Pada beberapa penelitian, efek valerian dalam mengurangi gejala insomnia berupa peningkatan kualitas tidur, peningkatan waktu induksi tidur, dan mengurangi waktu terbangun di malam hari. Namun dikatakan, efek valerian ini hanya berlaku bagi orang – orang dengan tipe *poor-sleeper*. Sedangkan dengan orang – orang dengan tipe *good – sleeper* secara garis besar ekstrak valerian tidak mempunyai efek yang cukup signifikan².

Efek lain yang dimiliki valerian adalah sebagai anti anxietas^{6,7,8,10,13,14}, untuk mengatasi nyeri perut, sebagai *muscle relaxan*^{2,12}, mengobati serak, dan jerawat⁷.

2.1.4 Kandungan Kimia

Akar valerian mengandung banyak zat kimia antara lain Alkaloid, isovaleramide, GABA, glutamin, asam valerat, [valepotriates](#), [acevaltrat](#), [isovaltrat](#) dan [valtrat](#), minyak volatil, dan flavanon^{2,6,14}. Alkaloid yang

terkandung berupa actinidin, catinin, valerianin dan valerin. Minyak volatil valerian mengandung sesquiterpen, yang terdiri dari asam [acetoxivalerenat](#), asam [valerenat](#)⁶. Glutamin ini dapat menembus sawar otak (ekstrak dalam bentuk liquid, bukan alkohol), lalu diubah menjadi GABA yang menimbulkan efek sedasi².

2.2 UJI TOKSISITAS AKUT

2.2.1 Definisi

Ketoksikan akut adalah derajat efek toksik suatu senyawa yang terjadi secara singkat (24 jam) setelah pemberian dalam dosis tunggal. Jadi yang dimaksud dengan uji toksisitas akut adalah uji yang dilakukan untuk mengukur derajat efek suatu senyawa yang diberikan pada hewan coba tertentu, dan pengamatannya dilakukan pada 24 jam pertama setelah perlakuan dan dilakukan dalam satu kesempatan saja^{1,11,16}.

Data kuantitatif uji toksisitas akut dapat diperoleh melalui 2 cara, yaitu dosis letal tengah (LD_{50}) dan dosis toksik tengah (TD_{50}). Namun yang paling sering digunakan adalah dengan metode LD_{50} .

2.2.2 Tujuan

Tujuan dilakukannya uji toksisitas akut adalah untuk menentukan potensi ketoksikan akut dari suatu senyawa dan untuk menentukan gejala yang timbul pada hewan coba^{1,11}. Data yang dikumpulkan pada uji toksisitas akut ini adalah data kuantitatif yang berupa kisaran dosis letal atau toksik, dan data kualitatif yang berupa gejala klinis.

2.2.3 Hewan Coba

Pada dasarnya tidak ada satu hewan pun yang sempurna untuk uji toksisitas akut yang nantinya akan digunakan oleh manusia. Walaupun tidak ada aturan tetap yang mengatur pemilihan spesies hewan coba¹¹, yang lazim digunakan pada uji toksisitas akut adalah tikus, mencit, marmut, kelinci, babi, anjing, monyet. Pada awalnya, pertimbangan dalam memilih hewan coba hanya berdasarkan avaibilitas, harga, dan kemudahan dalam perawatan. Namun seiring perkembangan zaman tipe metabolisme, farmakokinetik, dan perbandingan catatan atau sejarah avaibilitas juga ikut dipertimbangkan. Hewan yang paling sering dipakai adalah mencit dengan mempertimbangkan faktor ukuran, kemudahan perawatan, harga, dan hasil yang cukup konsisten dan relevan¹⁶.

2.2.4 Perlakuan Hewan Coba

Hewan coba harus dikarantina terlebih dahulu selama 7 – 14 hari. Karantina ini bertujuan untuk mengkondisikan hewan dengan suasana lab, dan untuk menghilangkan stres akibat transportasi. Temperatur dan kelembaban juga harus diperhatikan. Temperatur pertahankan suhu kamar, kelembapan antara 40 – 60%.

Pemberian senyawa pada hewan coba memiliki dosis maksimum (yaitu 5000mg/KgBB)¹⁶ dan batas maksimum volume cairan yang boleh diberikan pada hewan uji¹. Dosis yang diberikan minimal ada 4 peringkat dosis, yang diperkirakan menyebabkan 10 – 90% kematian hewan coba pada masa uji akhir. Hal ini dapat diperhitungkan dengan beberapa cara, yaitu:

1. Berdasarkan ED_{50} senyawa uji dari hasil uji farmakologi dengan hewan uji dengan jalur pemberian yang sama.
2. Berdasarkan harga LD_{50} senyawa uji pada hewan uji yang sama (5 – 10% LD_{50} intra vena).
3. Berdasarkan kelipatan dosis yang disarankan untuk digunakan pada manusia.
4. Mengikuti tabel konversi perhitungan dosis anta-jenis hewan, berdasarkan nisbah (ratio luas permukaan badan mereka)⁵.

2.2.5 Cara Pemberian

Cara pemberian senyawa pada hewan coba yang lazim adalah per oral, namun yang paling tepat adalah dengan mempertimbangkan kemungkinan cara pemberian senyawa tersebut pada manusia. Kebanyakan orang lebih memilih memakai obat dari kulit atau melalui inhalasi karena kemudahannya. Tetapi uji toksisitas melalui kedua cara tersebut sulit dilakukan. Ada beberapa alasan antara lain:

1. Uji toksisitas akut melalui kulit membutuhkan biaya yang lebih besar dari pada pemberian per oral¹⁶.
2. Uji toksisitas akut melalui inhalasi membutuhkan alat khusus, agar perhitungan induksi obat sesuai standar, sehingga butuh biaya lebih banyak dan dengan metode yang lebih rumit¹⁶.
3. Tidak banyak hewan yang memiliki struktur kulit yang sama dengan manusia, karena manusia mempunyai epidermis (stratum corneum) yang lebih tebal dari hewan coba pada umumnya. Hewan

yang mempunyai tingkat kesamaan paling tinggi dalam struktur kulit adalah babi¹⁶.

2.2.6 Pengamatan

Pengamatan dilakukan 24 jam pertama sejak diberikan perlakuan, dan 7 – 14 hari pada kasus tertentu. Ada baiknya untuk mengamati hewan coba sebelum diberi perlakuan. Hal ini bertujuan untuk mengetahui perubahan gejala yang terjadi setelah diberi perlakuan dengan membandingkan gejala atau perilaku sebelum perlakuan.

Kriteria Pengamatan meliputi¹:

1. Pengamatan terhadap gejala – gejala klinis.
2. Perubahan berat badan.
3. Jumlah hewan yang mati pada masing – masing kelompok uji.
4. Histopatologi organ.

2.2.7 Analisa dan Evaluasi Hasil

Data gejala – gejala klinis yang didapat dari fungsi vital, dapat dipakai sebagai pengevaluasi mekanisme penyebab kematian secara kualitatif. Data hasil pemeriksaan histopatologi digunakan untuk mengevaluasi spektrum efek toksik. Data jumlah hewan yang mati dapat digunakan untuk menentukan nilai LD₅₀.

Jika pada batas dosis maksimum tercapai, namun belum diketahui LD₅₀-nya, maka hasil yang didapat tertulis “LD₅₀ lebih dari 5000mg/KgBB”¹⁶. Dan jika sampai pada batas volume maksimum yang

boleh diberikan pada hewan uji, namun belum menimbulkan kematian, maka dosis tertinggi tersebut dinyatakan sebagai LD₅₀ semu (LD₀)¹.

2.3 LETHAL DOSE 50

Lethal Dose 50 adalah suatu besaran yang diturunkan secara statistik, guna menyatakan dosis tunggal sesuatu senyawa yang diperkirakan dapat mematikan atau menimbulkan efek toksik yang berarti pada 50% hewan coba setelah perlakuan^{1,15}. LD₅₀ merupakan tolak ukur kuantitatif yang sering digunakan untuk menyatakan kisaran dosis letal.

Ada beberapa pendapat yang menyatakan tidak setuju, bahwa LD₅₀ masih dapat digunakan untuk uji toksisitas akut. Namun ada juga beberapa kalangan yang masih setuju, dengan pertimbangan:

- a. Jika dilakukan dengan baik, uji toksisitas akut tidak hanya mengukur LD₅₀, tetapi juga memberikan informasi tentang waktu kematian, penyebab kematian, gejala – gejala sebelum kematian, organ yang terkena efek, dan kemampuan pemulihan dari efek nonlethal¹¹.
- b. Hasil dari penelitian dapat digunakan untuk pertimbangan pemilihan *design* penelitian subakut¹¹.
- c. Tes LD₅₀ tidak membutuhkan banyak waktu¹¹.
- d. Hasil tes ini dapat langsung digunakan sebagai perkiraan risiko suatu senyawa terhadap konsumen atau pasien¹¹.

Pada dasarnya, nilai tes LD₅₀ yang harus dilaporkan selain jumlah hewan yang mati, juga harus disebutkan durasi pengamatan. Bila pengamatan dilakukan

dalam 24 jam setelah perlakuan, maka hasilnya tertulis “LD₅₀ 24 jam”. Namun seiring perkembangan, hal ini sudah tidak diperhatikan lagi, karena pada umumnya tes LD₅₀ dilakukan dalam 24 jam pertama sehingga penulisan hasil tes “LD₅₀” saja sudah cukup untuk mewakili tes LD₅₀ yang diamati dalam 24 jam. Bila dibutuhkan, tes ini dapat dilakukan lebih dari 14 hari. Sebagai contoh adalah senyawa *tricrosyl phosphat*, akan memberikan pengaruh secara neurologik pada hari 10 – 14, sehingga bila diamati pada 24 jam pertama tidak akan menemukan hasil yang berarti. Penulisan hasil harus disertai dengan durasi pengamatan¹¹.

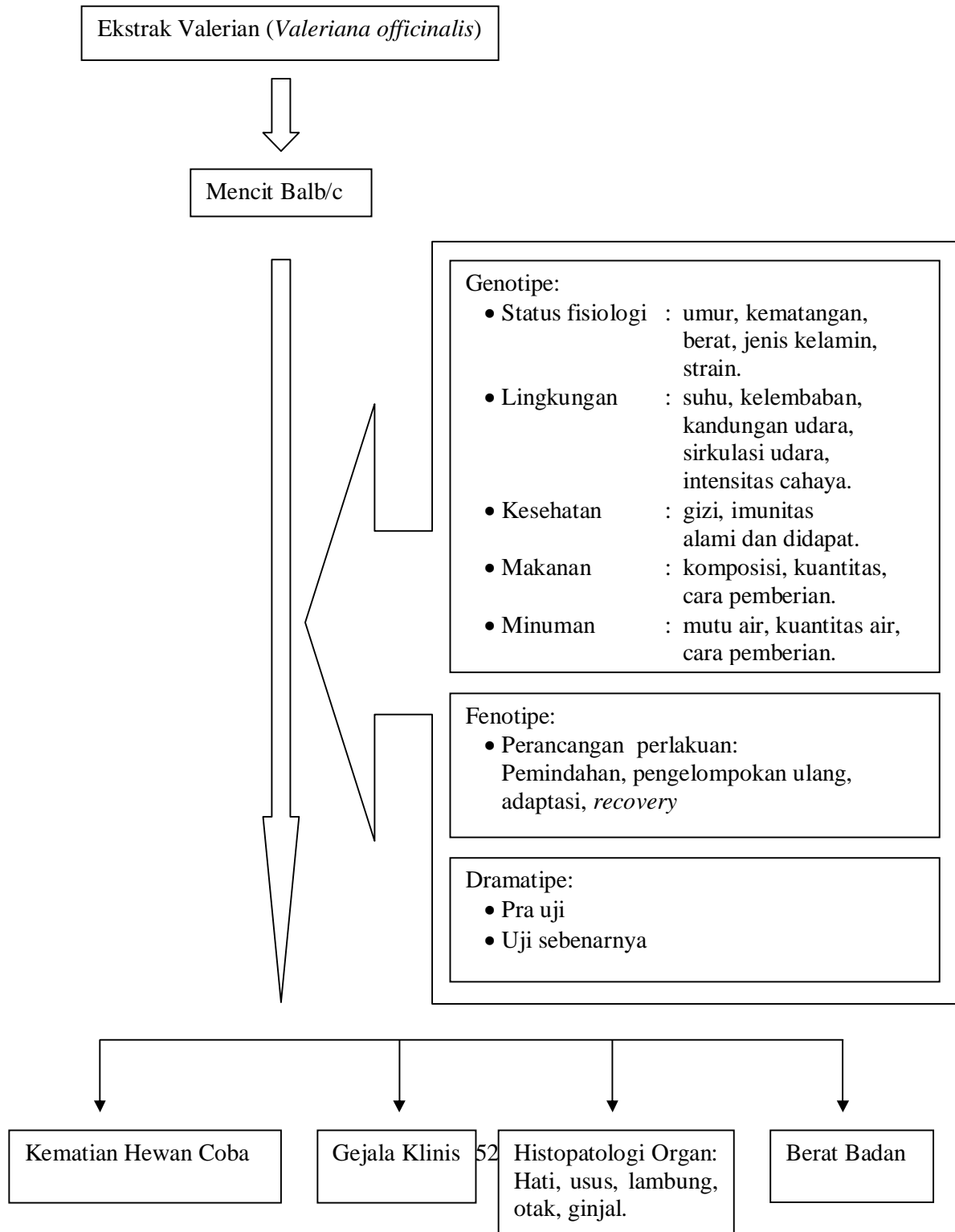
Ada beberapa hal yang dapat mempengaruhi nilai LD₅₀ antara lain spesies, strain, jenis kelamin, umur, berat badan, gender, kesehatan nutrisi, dan isi perut hewan coba. Teknis pemberian juga mempengaruhi hasil, antara lain waktu pemberian, suhu lingkungan, kelembaban, sirkulasi udara. Kesalahan manusia juga dapat mempengaruhi hasil ini, sehingga sebelum melakukan penelitian ada baiknya kita memperhatikan faktor – faktor yang mempengaruhi hasil ini¹⁵.

Secara umum, semakin kecil nilai LD₅₀, semakin toksik senyawa tersebut. Begitu pula sebaliknya, semakin besar nilai LD₅₀, semakin rendah toksisitasnya. Hasil yang diperoleh (dalam mg/kgBB) dapat digolongkan menurut potensi ketoksikan akut senyawa uji menjadi beberapa kelas, seperti yang terlihat pada tabel berikut.

Tabel 1. Potensi ketoksikan akut senyawa uji berdasarkan Kriteria Loomis (1978)¹¹

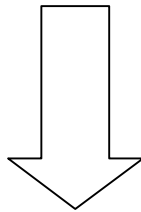
| No. | Kelas | LD50 (mg/KgBB) |
|-----|--------------------------|------------------|
| 1 | Luar biasa toksik | 1 atau kurang |
| 2 | Sangat toksik | 1 – 50 |
| 3 | Cukup toksik | 50 – 500 |
| 4 | Sedikit toksik | 500 – 5000 |
| 5 | Praktis tidak toksik | 5000 – 15000 |
| 6 | Relatif kurang berbahaya | lebih dari 15000 |

2.4 KERANGKA TEORI



2.5 Kerangka Konsep

Ekstrak Valerian (*Valeriana officinalis*)



Kematian Hewan Coba

2.6 Hipotesis

Ekstrak Valerian termasuk dalam kriteria “Praktis Tidak Tosik” berdasarkan kriteria Loomis (1978)⁹.

BAB III

METODOLOGI PENELITIAN

3.1 Ruang Lingkup Penelitian

1. Ruang lingkup keilmuan

Ruang lingkup keilmuan penelitian ini meliputi farmakologi.

2. Ruang lingkup waktu

Penelitian dan pengumpulan data berlangsung selama kurang lebih dua minggu.

3. Ruang lingkup tempat

Pemeliharaan, perlakuan dan pengamatan terhadap hewan coba dilakukan di Laboratorium Farmakologi dan Terapi Fakultas Kedokteran Diponegoro Semarang.

3.2 Jenis Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorik dengan desain yang dipakai adalah *Post Test-Only Controled Group Design*.

3.3 Populasi Dan Sampel

3.3.1 Populasi

Populasi penelitian ini adalah mencit strain Balb/c jantan umur 2 – 3 bulan dengan berat badan lebih kurang 25 - 35 gram, yang diperoleh dari Unit Pemeliharaan Hewan Percobaan (UPHP) Yogyakarta.

3.3.2 Sampel

Penentuan besar sampel menurut ketentuan WHO, yakni dengan jumlah sampel minimal 5 untuk setiap kelompok. Penelitian ini menggunakan 30 ekor mencit Balb/c yang dibagi menjadi 5 kelompok dengan randomisasi sederhana, yaitu 4 kelompok perlakuan dan 1 kelompok kontrol negatif, sehingga dalam satu kelompok terdiri dari 6 ekor mencit Balb/c.

3.3.3 Kriteria Inklusi

- a. Mencit strain Balb/c
- b. Jenis kelamin jantan
- c. Berat badan 25-35 gram
- d. Umur 2-3 bulan
- e. Tingkah laku dan aktivitas tikus normal
- f. Tidak ada kelainan anatomi yang tampak

3.3.4 Kriteria Eksklusi

- a. Mencit tampak sakit
- b. Terdapat abnormalitas anatomi
- c. Mencit mati

3.4 Variabel Penelitian

1. Variabel bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah pemberian ekstrak akar *Valeriana officinalis* (skala ratio) per oral.

2. Variabel tergantung

Variabel tergantung pada penelitian ini adalah jumlah hewan coba yang mati.

3.5 Alat Dan Bahan Penelitian

3.5.1 Alat Penelitian

Bahan – bahan yang diperlukan dalam penelitian ini adalah:

- a. Ekstrak alkohol 70% akar valerian (*Valeriana officinalis*).
- b. Mencit jantan strain Balb/c.
- c. Makanan dan minuman mencit.

3.5.2 Bahan Penelitian

Alat – alat yang diperlukan dalam penelitian ini adalah:

- a. Kandang mencit
- b. Mikro pipet kepekaan 0,001 ml
- c. Timbangan digital kepekaan 0,1 g
- d. Sonde lambung
- e. Kapas
- f. Tabung erlenmeyer

3.6 Data yang Dikumpulkan

Data yang dikumpulkan dalam penelitian ini adalah data primer dari hasil pengamatan hewan coba, baik kelompok kontrol maupun kelompok perlakuan. Data yang diperoleh berupa data kuantitatif dan kaulitatif. Data kuantitatif yang akan diperoleh yaitu jumlah hewan coba yang mati, sedangkan data

kualitatif yang akan diperoleh berupa gejala efek toksik suatu senyawa (ekstrak valerian) terhadap beberapa fungsi vital hewan coba.

3.7 Cara Kerja

3.7.1 Aklimatisasi

Sebelum mendapat perlakuan, 30 ekor mencit Balb/c jantan sehat, berusia 2 – 3 bulan dengan berat badan 25 – 35 gram, mengalami masa adaptasi dan diberi ransum pakan standard dan minum selama 7 hari secara *ad libitum*. Proses aklimatisasi dilakukan di Laboratorium Farmakologi dan Terapi Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro Semarang.

3.7.2 Randomisasi

Pada penelitian ini, 30 ekor mencit Balb/c dibagi dalam 5 kelompok perlakuan yang masing – masing terdiri dari 6 ekor mencit yang ditentukan secara acak. Lima kelompok perlakuan tersebut adalah :

- a. Kelompok kontrol (K) : tidak diberi perlakuan (ekstrak), hanya diberi aquadest per oral selama 7 hari.
- b. Kelompok Perlakuan 1 (P1) : diberi dosis 1 ekstrak valerian 5 mg / kgBB
- c. Kelompok Perlakuan 2 (P2) : diberi dosis 2 ekstrak valerian 50 mg / kgBB

d. Kelompok Perlakuan 3 (P3) : diberi dosis 3 ekstrak valerian

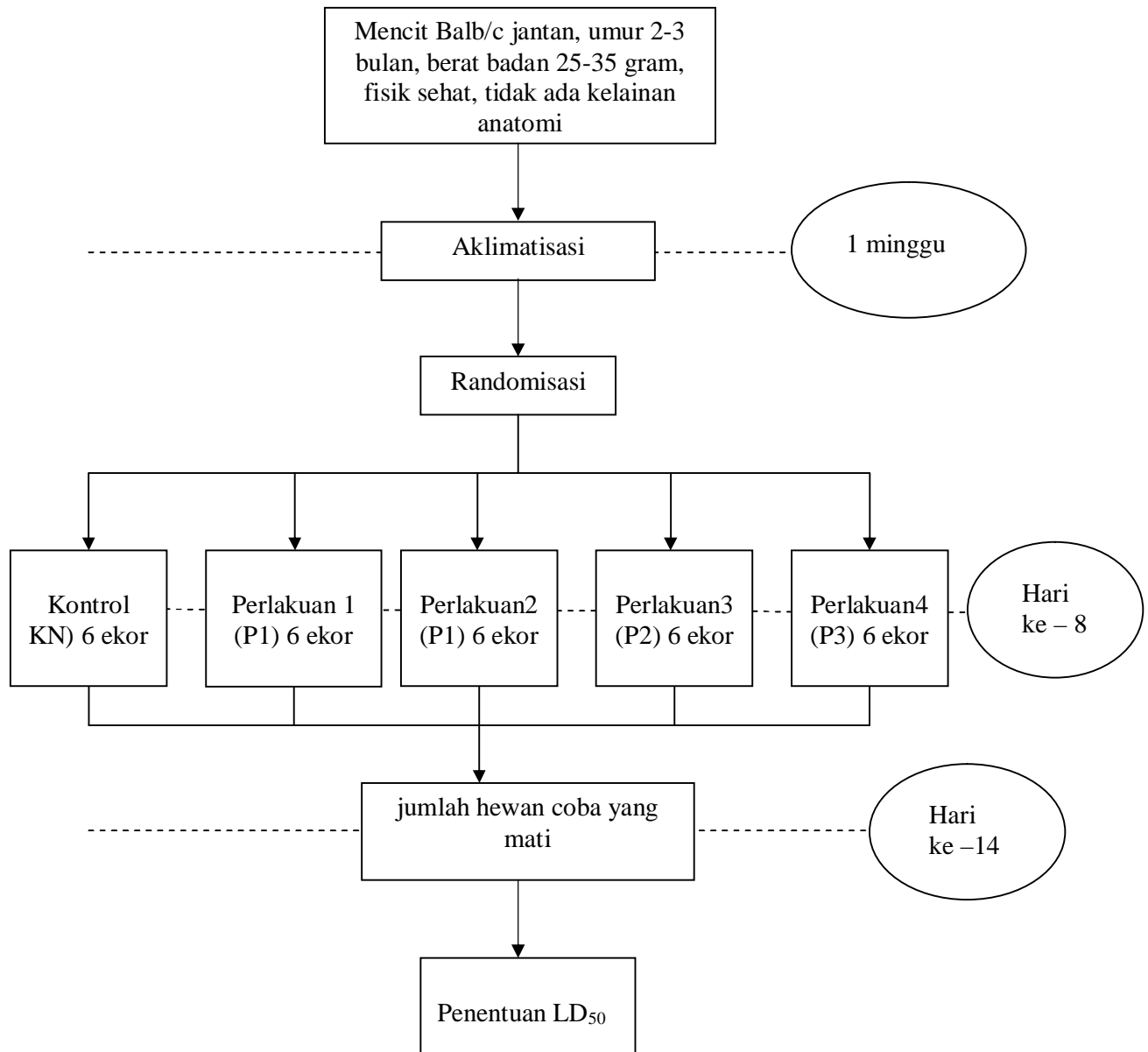
500 mg / kgBB

e. Kelompok Perlakuan 4 (P4) : diberi dosis 4 ekstrak valerian

2000 mg / kgBB

Pemberian ekstrak valerian (*Valeriana officinalis*) pada mencit Balb/c dilakukan melalui sonde lambung dan hanya diberikan satu kali, yaitu pada hari ke- 1. Selanjutnya untuk hari ke- 2 hingga hari ke- 7, tetap diberi pakan standar.

3.8 Alur Penelitian



Keterangan :

K : kontrol negatif (mencit Balb/c + aquadest), terus selama 7 hari

P1 : mencit Balb/c + ekstrak valerian dengan dosis 5 mg/kgBB

P2 : mencit Balb/c + ekstrak valerian dengan dosis 50 mg/kgBB

P3 : mencit Balb/c + ekstrak valerian dengan dosis 500 mg/kgBB

P4 : mencit Balb/c + ekstrak valerian dengan dosis 2000 mg/kgBB

3.9 Prosedur Pengamatan

Pengamatan gejala klinis dilakukan 24 jam pertama setelah perlakuan. Penghitungan tikus mati dilakukan sejak perlakuan hingga 7 hari pasca perlakuan.

3.10 Definisi Operasional

1. Ekstrak Valerian (*Valeriana officinalis*) Ekstrak yang diberikan adalah ekstrak alkohol 70% akar valerian (*Valeriana officinalis*) dalam bentuk serbuk yang distandardisasi.
2. Pengamatan gejala klinis berdasarkan kriteria spektrum efek toksik Loomis (Lampiran 1), yang nantinya akan menjadi data kualitatif.
3. Mencit tampak sehat adalah berdasar pengamatan luar, meliputi gerak aktif, nafsu makan normal, dan tidak terdapat luka yang berarti.

3.11 Analisa Data

Data kuantitatif yang diperoleh yaitu jumlah hewan coba yang mati, yang kemudian dianalisa menggunakan analisa probit untuk mengetahui potensi toksisitas akut (LD_{50}) ekstrak valerian. Hasil data tersebut kemudian diolah menggunakan program SPSS for Windows.

BAB IV

HASIL

4.1 Analisis Sampel

Sampel sebanyak 25 ekor mencit memenuhi kriteria inklusi, sehingga langsung mengalami randomisasi. Dua puluh lima ekor mencit tersebut tidak mengalami sakit ataupun mati selama percobaan.

Hasil pengamatan uji kuantitatif berupa jumlah mencit mati, ditunjukkan dalam tabel 2 di bawah ini.

Tabel 2. Jumlah mencit mati 7 hari dan gejala toksik setelah pemberian ekstrak valerian dosis tunggal

| Kelompok | Perlakuan | Jumlah Sampel | Jumlah mencit mati | Gejala Toksik |
|----------|-------------------------------|---------------|--------------------|---------------|
| Kontrol | Aquadest | 5 | 0 | tidak ada |
| P1 | 5 mg/KgBB ekstrak valerian | 5 | 0 | tidak ada |
| P2 | 50 mg/KgBB ekstrak valerian | 5 | 0 | tidak ada |
| P3 | 500 mg/KgBB ekstrak valerian | 5 | 0 | tidak ada |
| P4 | 2000 mg/KgBB ekstrak valerian | 5 | 0 | tidak ada |

4.2 Analisis Deskriptif

Pengamatan uji kualitatif tidak ditemukan gejala toksik yang signifikan pada seluruh mencit di seluruh kelompok. Perubahan aktivitas yang tampak yaitu aktivitas lokomotor yang menurun. Hasil pengamatan selengkapnya tersaji dalam tabel 3.

BAB V

PEMBAHASAN

Peneliti mendapatkan tidak ada satu mencit pun yang mati setelah diberi perlakuan, sehingga data tidak dapat diproses menggunakan SPSS 15 for windows. Berdasarkan kesepakatan yang diambil para ahli, jika dosis maksimal tidak menimbulkan kematian hewan coba, maka LD₅₀ dinyatakan dengan LD₅₀ ‘semu’ dengan mengambil dosis maksimal^{5,6}. Sehingga dalam penelitian ini LD₅₀ diketahui sebagai LD₅₀ semu, yaitu 2000 mg/KgBB. Hasil ini tidak dapat dimasukkan dalam kriteria Loomis, karena LD₅₀ yang didapat bukan merupakan LD₅₀ yang sesungguhnya.

Dosis 2000 mg/KgBB merupakan konversi dosis maksimal pada manusia ke mencit berdasarkan usulan EOCED. Berdasarkan kesepakatan para ahli, bila pada dosis maksimal tidak ada kematian pada hewan coba, maka jelas senyawa tersebut termasuk dalam kriteria “Praktis Tidak Toksik”^{5,6}. Sehingga dosis maksimal pada manusia yang dikonversikan menjadi 2000mg/KgBB pada mencit, di mana dosis tersebut tidak menimbulkan kematian pada seluruh hewan coba, termasuk dalam kriteria “Praktis Tidak Toksik” dalam kriteria Loomis (1978). Hipotesis penelitian dapat diterima

Penelitian terdahulu mendapatkan derajat ketoksikan valerian pada manusia terbukti cukup rendah. Walaupun tidak secara spesifik, namun hasil yang didapat adalah ringannya efek samping serta sedikitnya angka kejadian gejala toksik lainnya pada penggunaan dalam jangka waktu pendek³. Beberapa peneliti lain melaporkan pemberian valerian pada 16 orang dengan dosis bertingkat

selama 14 hari, hanya 2 yang mengalami efek samping. Efek samping itu pun ringan yaitu berupa keluhan gastrointestinal⁷.

Penelitian lain menyebutkan LD₅₀ ekstrak akar valerian pada tikus, mencapai lebih dari 5000 mg/KgBB²¹, sehingga dapat dinyatakan “Praktis Tidak Toksik”.

Dosis tertinggi di dalam penelitian ini adalah 2000 mg/KgBB. Sedangkan dosis maksimal yang diijinkan untuk percobaan dengan menggunakan mencit adalah 5000 mg/KgBB, sehingga belum mencapai dosis maksimal yang dianjurkan dan belum menimbulkan kematian hewan coba pada percobaan ini.

Peneliti tidak menemukan kelainan apapun yang signifikan yang terjadi pada mencit seluruh kelompok setelah pemberian perlakuan pada uji kualitatif gejala toksik. Perubahan aktivitas yang tampak, yaitu aktivitas lokomotor menurun.

Kekurangan penelitian ini adalah peneliti tidak mengamati beberapa spektrum gejala toksik Loomis seperti defekasi, kencing, salivasi, apnea, dispnea, jantung, sekret hidung, dan suhu badan. Keterbatasan sarana merupakan kendala untuk menilai gejala – gejala di atas.

BAB VI

KESIMPULAN DAN SARAN

6.1 Kesimpulan

LD₅₀ ekstrak *Valeriana officinalis* termasuk dalam kriteria “Praktis Tidak Toksik” berdasarkan kriteria Loomis (1978)

6.2 Saran

1. Perlu diadakan penelitian lebih lanjut tentang LD₅₀ ekstrak *Valeriana officinalis* dengan menggunakan dosis yang lebih tinggi.
2. Perlu dilakukan penelitian toksisitas akut terhadap hewan uji lain yang memiliki nilai penelitian yang lebih tinggi.
3. Persiapan sarana penunjang penelitian dengan baik akan mencapai hasil yang lebih *valid*, terutama dalam hal pengamatan gejala toksik.

DAFTAR PUSTAKA

1. Nurlaila, Donatus IA, Sugiyanto, Wahyono D, Suhardjono D. Petunjuk Praktikum Toksikologi. 1st ed. Yogyakarta: Laboratorium Farmakologi dan Toksikologi Fakultas Farmasi, Universitas Gajah Mada; 1992. P. 3 – 5, 16 – 30
2. Valerian. Office of Dietary Supplement. [online] 2008 January 1 [cited 2009 February 1] Available from: URL http://ods.od.nih.gov/factsheets/Valerian_pf.asp
3. Fugh, Adrian-Berman. He 5-Minute Herb and Dietary Supplement Clinical Consult. Lippincott Williams & Wilkins; 2003
4. Houghton, Peter J. Valerian The Genus Valeriana. Harwood Academic
5. *Valeriana officinalis* L. Garden Valerian. Natural Resources Consevation Services. [online] 2008 February 16 [cited 2009 February 17]
6. Valerian (herb). Wikipedia [online] 2008 December 17 [cited 2009 February 1] Available from: URL http://en.wikipedia.org/wiki/Valerian_%28herb%29
7. Valerian (*Valeriana officinalis*). Medline Plus. [online] 2008 January 1 [cited 2009 February 1]. Available from: URL <http://www.nlm.nih.gov/medlineplus/druginfo/natural/patient-valerian.html>

8. Hadley S, Petry JJ, Valerian. American Family Physician. [online] 2003 April 15 [cited 2009 February 5]. Available from: URL www.aafp.org/afp/20030415/1755.html
9. Lavie P. Sleep Disturbances in the Wake of Traumatic Events. The New England Journal of Medicine. [online] 2001 December 20 [cited 2009 February 17]. Available from: www.nejm.org
10. Valerian. National Center for Complementary and Alternative Medicine. [online] 2008 June [cited 2009 February 17]. Available from: www.nccam.nih.gov
11. Loomis TA. Essential of toxicology. 3rd ed. Philadelphia: Lea & Febiger; 1987. p. 198 – 202
12. Kobus Z. Dry Matter Extraction From Valerian Roots (*Valeriana officinalis L*) With The Help of Pulsed Acoustic Field. International Agrophysics 2008; 22:133 – 137
13. Shinomiya K, Fujimura K, Kim Y, Kamei C. Effect of Valerian Extract in The Sleep-Wake Cycle in Sleep-disturbed Rats. Acta Medica Okayama 2005; 3:89 – 92
14. Adeyemi F. Valerian Monograph. [online] 2003 August 5 [cited 2009 February 17]. Available from: www.uchsc.edu
15. Hodgson, Ernest. A Textbook of Modern Toxicology. 2nd ed. Singapore: McGraw – hill Book Co; 2000. p. 292 - 295
16. Jacobson-Kram, Keller KA. Toxicology Testing Handbook. Washington DC: Ork Basel. p. 1 - 20

17. Sastroasmoro S, Ismael S. Dasar – Dasar Metodologi Penelitian Klinis. 2nd ed. CV Sagung Seto; 2002. p. 314 – 322
18. Bakta IM. Cara Penulisan Gaya Vancouver. [cited 2009 February 5]
Available from: URL
http://forum.indogamers.us/f399/cara_penulisan_daftar_rujukan_menu_rut_gaya_vancouver-3645/#post89537
19. Dahlan MS. Seri Statistik: Statistika Untuk Kedokteran dan Kesehatan, Uji Hipotesis Dengan Menggunakan SPSS Program 12 Jam. Jakarta: PT Arkans; 2004. p. 89 – 121
20. Donatus IA. Toksikologi Dasar. Yogyakarta: Laboratorium Farmakologi dan Toksikologi Fakultas Farmasi, Universitas Gajah Mada; 2001
21. Evaluation of Valerian root oil for Use as a Cigarette Ingredient. [online] December 2005 [cited 2009 August 12]. Available from: URL
<http://www.pmintl-technical-product-information.com/global/downloads/ingredients/Valerian%20root%20oil.pdf>

Lampiran 1. Daftar Pemeriksaan Fisik dan Pengamatan Hewan dalam Uji Toksisitas (Loomis 1.978)

1. Aktivitas
 - Aktivitas lokomotor turun
 - Aktivitas lokomotor turun.
 - Melompat — lompat
2. Reaksi yang aneh
 - Berkeliling tanpa arch
 - Menyeruduk
 - Gerakan menyodok hidung
 - Gerakan berputar — putar
3. Interaksi
 - Perilaku penyelidikan naik
 - Perilaku penyelidikan turun
 - Frekuensi tabrakan naik
 - Frekuensi tabrakan turun
4. Ekor abnormal
 - Ekor kaku
 - Ekor lemas
5. Perilaku agresif
 - Sesama spesies naik
 - Sesama spesies turun
6. Ataksia
7. Konvulsi
 - Konvulsi tonic
 - Konvulsi klonis
 - Konvulsi campuran
8. Paralisis
- 9 Respon somatic
 - Mencakar
 - Menggeliat
10. Kelemahan
 - Lesu
11. Hilang kesadaran
12. Tremor
 - Tremor istirahat dan bergerak
 - Tremor istirahat saja
13. Eksoftalmus
14. Iritasi mata
 - Opasitas mata
 - Berkedip berlebih
 - Iritis
15. Fotofobia
16. Besar pupil
 - Miosis
 - Midriasis
17. Pernapasan
 - Laju pernafasan naik
 - Laju pernapasan turun
 - Kedalaman pernapasan naik
 - Kedalaman pernafasan turun
 - Pernapasan tidak teratur
18. Sianosis
19. Defisit motor
 - Bidang datar
 - Roda berputar
 - Kawat horizontal
20. Piloereksi
21. Kematian

