

Karakterisasi dan Toksisitas Akut pada Minyak Buah Merah (*Pandanus conoideus* Lam)

Lucie Widowati¹, Pudjiastuti¹, Harfia Mudahar²

¹Puslitbang Biomedis dan Farmasi, Badan Litbangkes, Depkes

²Fakultas Farmasi, Universitas Tujuh Belas Agustus

email: lwid@litbang.depkes.go.id

Abstract

Buah Merah (*Pandanus conoideus* Lam), is an endemic plant from Papua and its surrounding. Oil of buah merah known and claimed for cancer, HIV/AIDS, lung tuberculosis, diabetic and decreased blood cholesterol treatment. Since buah merah oil widely is used in communities, safety test is needed. There were no toxic effects as abnormal behavior or mortality in rats, even using in high dose of, 5 ml/200g body weight or approximately 9.4 times of human dose (1 x HD = 30 ml). Due to this situation, the acute toxicity has been done by Biomedical and Pharmaceutical Research and Development Center, at 2006. The result showed that qualitative test based on chemical group compounds, triterpenoid, phenol and steroid have been found clearly. Basically the oil is not toxic for single dose. Since there's no mortality, the LD₅₀ will be considered as pseudo LD₅₀, that means that doses of 5 ml/200g body weight of Wistar rat is safe for utilization, or the safety dose for human will be in a very large range.

Key words: Buah Merah, *Pandanus conoideus* Lam, Characterization, Acute toxicity

Pendahuluan

Minyak buah merah diklaim dapat menyembuhkan kanker (otak, rahim, hati dan payudara), HIV/AIDS, penyakit tuberkulosis paru, diabetes dan menurunkan kadar kolesterol darah^{1,2}. Klaim-klaim yang berkembang di masyarakat masih bersifat empiris, belum mempunyai landasan ilmiah. Oleh karena itu masih diperlukan penelitian untuk membuktikan klaim-klaim tersebut.

Berbagai institusi penelitian mulai meneliti khasiat minyak buah merah sesuai dengan klaim yang berkembang di masyarakat. Sebagai lembaga penelitian di bawah Depkes, Badan Litbangkes dalam hal ini Puslitbang Biomedis dan Farmasi bertanggung jawab memberikan landasan ilmiah mengenai keamanan penggunaan minyak buah merah yang berkaitan dengan sifat tok-

siknya. Sifat toksik suatu bahan berkaitan langsung dengan kandungan kimia yang terdapat dalam bahan tersebut dan karena itu data keamanan perlu dilengkapi dengan informasi tentang karakter bahan uji melalui parameter spesifik dan non spesifik.

Pada penafsiran dan evaluasi sifat toksik suatu bahan, langkah pertama yang harus dilakukan adalah melalui penetapan toksisitas akut. Uji toksisitas akut adalah suatu pengujian untuk mendeteksi efek toksik yang muncul dalam waktu singkat setelah pemberian bahan uji dalam dosis tunggal, yang menyebabkan kematian 50% hewan uji. Sehingga untuk mengetahui karakter kimia fisik dan menilai potensi ketoksikan akut minyak Buah Merah, maka dilakukan uji karakter non spesifik dan spesifik dan uji toksisitas LD₅₀ minyak Buah Merah.

Metoda**Bahan**

- a) Bahan Uji
Buah merah berasal dari Papua
- b) Hewan Coba
Tikus Putih, Galur Wistar (*Rattus norvegicus*), jenis kelamin jantan, dan betina, umur \pm 2 bulan, bobot badan rata-rata 160 gram, berasal dari Puslitbang Biomedis dan Farmasi.

Cara Kerja**a) Karakterisasi Minyak Buah Merah**

Karakterisasi minyak Buah Merah dilakukan terhadap parameter non spesifik meliputi penentuan bobot jenis, kadar air, kadar abu, kadar abu yang tidak larut asam, dan parameter spesifik meliputi penentuan organoleptik, senyawa terlarut dalam air, senyawa terlarut dalam etanol, uji kandungan kimia (golongan steroid, tanin, flavonoid, triterpenoid (saponin), alkaloid dan antrakinon serta penentuan kromatogram dari Kromatografi Lapis Tipis (KLT) dari pelarut polar sampai non polar yaitu heksan, etil asetat dan etanol³.

b) Toksisitas Akut

Uji toksisitas akut oral cara WHO⁴ menggunakan hewan coba tikus putih, galur Wistar, jenis kelamin jantan dan betina, umur 2 bulan. Paling sedikit 4 kelompok dosis, jumlah hewan untuk setiap kelompok paling sedikit 5 ekor jantan dan 5 ekor betina.

Dosis

Dosis paling besar adalah jumlah maksimal bahan uji yang secara teknis dapat diterima oleh hewan coba. Kemudian dosis diturunkan dengan menggunakan kelipatan dosis secara logaritmik. Bila pada dosis 5 ml/200g bobot badan atau dosis maksimal

yang secara teknis dapat masuk dalam tubuh tikus secara oral, dan tidak dihasilkan efek toksik, dosis tidak perlu dinaikkan lagi.

Observasi

Pengamatan meliputi kesehatan hewan/gejala klinis, berat badan, jumlah kematian, dan *gross pathology* (patologi makro) untuk hewan coba yang mati pada waktu pengamatan. Pengamatan dilakukan selama 14 hari, setiap hari bobot badan ditimbang, dicatat terjadinya gejala klinik /toksik.

Perlakuan Pendahuluan terhadap Hewan Coba

Sebelum percobaan dimulai, hewan uji diaklimatisasi di dalam ruangan percobaan selama kurang lebih 7 hari, kemudian dikelompokkan secara acak sedemikian rupa sehingga penyebaran bobot tubuh merata untuk semua kelompok. Sebelum pemberian bahan uji, masing-masing hewan uji ditimbang.

Hewan coba dipuaskan selama 16 sampai 18 jam sebelum pemberian bahan uji, dan diberi makan lagi lebih kurang 4 jam setelah pemberian bahan uji. Selama 6 jam setelah pemberian bahan uji, hewan diamati secara saksama terhadap adanya gejala toksik dan kematian.

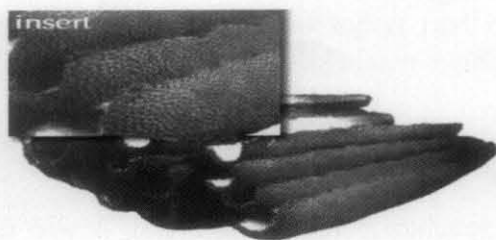
Pengamatan dilanjutkan sampai 14 hari, diamati 2 hari sekali. Bobot tubuh ditimbang paling sedikit tiga kali dalam satu minggu.

Analisis Data

Penentuan LD₅₀ menggunakan probit. Apabila tidak terjadi kematian hewan coba maka hasil toksisitas akut dapat ditentukan berdasarkan tingkatan dosis terbesar atau dikatakan harga LD₅₀ semu⁵.

Hasil dan Pembahasan

Buah Merah berbentuk lonjong, umumnya berdiameter 5-15 cm dan berat 3-12 kg atau dapat mencapai berat sampai 30 kg. Pada saat muda berwarna hijau kemudian berangsur-angsur berubah menjadi cokelat dan merah tua. Buah terdiri dari empulur tempat menempel biji yang sangat keras dan terbungkus daging buah berwarna merah.



Gambar 1. Buah merah (*Pandanus conoideus* Lam)

Cara Pembuatan Minyak Buah Merah⁽⁶⁾

Buah Merah yang sudah tua dipetik, dicuci hingga kulit buah terlihat bersih. Buah dipotong menjadi dua, empulur yang terdapat di tengah pada bagian dalam buah dibuang dengan cara mengerok menggunakan sendok, setelah itu buah dipotong kecil. Potongan buah direbus dalam air selama 2 jam dengan api yang besar sambil diaduk, dan rebusan dihentikan jika sudah mengeluarkan minyak. Minyak dipisahkan dari rebusan. Dari buah merah sepanjang 1 meter dengan berat 20-30 kg hanya dihasilkan sekitar 250 ml minyak.

Karakterisasi Minyak Buah Merah

Parameter non spesifik dan spesifik digambarkan dengan beberapa sifat fisik dan kimia serta kandungan golongan kimianya. Parameter non spesifik dapat dilihat pada Tabel 1 Sifat fisik dan kimia dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Parameter Non Spesifik Minyak Buah Merah

No	Pemeriksaan	Hasil
1.	Bobot Jenis	0,92
2.	Kadar air	0,47 %
3.	Kadar abu	3,06 %
4.	Kadar abu tidak larut asam	0,32 %

Sediaan dari herba umumnya mempunyai masalah yang berkaitan dengan aspek mutu, karena sifat alami simplisia yang merupakan campuran berbagai metabolit sekunder yang secara kuantitatif dan kualitatif dapat berubah karena faktor genetik maupun lingkungan⁷. Pada tabel di atas, kadar abu dan kadar abu tidak larut asam mempunyai nilai yang rendah, menunjukkan kandungan mineral dalam minyak buah merah.

Parameter spesifik berupa sediaan minyak berwarna merah terang, senyawa terlarut dalam air 11,09% dan senyawa terlarut dalam etanol 5,66%. Senyawa spesifik utama adalah adanya senyawa betakaroten, tokoferol, asam oleat, asam linoleat, asam linolenat. Untuk mengetahui golongan kimia lain yang terkandung dalam minyak buah merah, dilakukan pemisahan dalam pelarut dengan jenis polaritas yang berbeda yaitu heksan, etil asetat dan etanol. Minyak buah merah hanya larut dalam heksan (non polar), dan dengan pelarut ini didapatkan ekstrak heksan. Untuk memisahkan kandungan dalam ekstrak heksan, dilakukan fraksinasi dengan pelarut semi polar (asetonitril), sehingga didapatkan fraksi heksan dan fraksi asetonitril. Pemeriksaan pendahuluan golongan senyawa kimia minyak buah merah dilakukan pada ekstrak heksan, fraksi heksan dan fraksi asetonitril. Golongan senyawa komponen kimia yang ada dalam minyak Buah

Merah ditentukan dengan reaksi kimia yang khas^{8,9}. Hasil dapat dilihat pada Tabel 2.

Senyawa kimia lain yang diduga terdapat dalam buah merah adalah golongan senyawa fenol yang umumnya berkhasiat sebagai antioksidan, triterpenoid (minyak atsiri) dan steroid.

Penetapan Profil Kromatogram Komponen Utama

Karakter minyak Buah Merah spesifik digambarkan dari profil kromatogram dengan harga Rf masing-masing bercak ekstrak heksan, fraksi heksan dan fraksi asetonitril. Harga Rf bercak masing-masing dapat dilihat pada Tabel 3. Kromatogram KLT dengan cairan pengembang heksan: etil asetat (7:3) dapat dilihat pada Gambar 2.

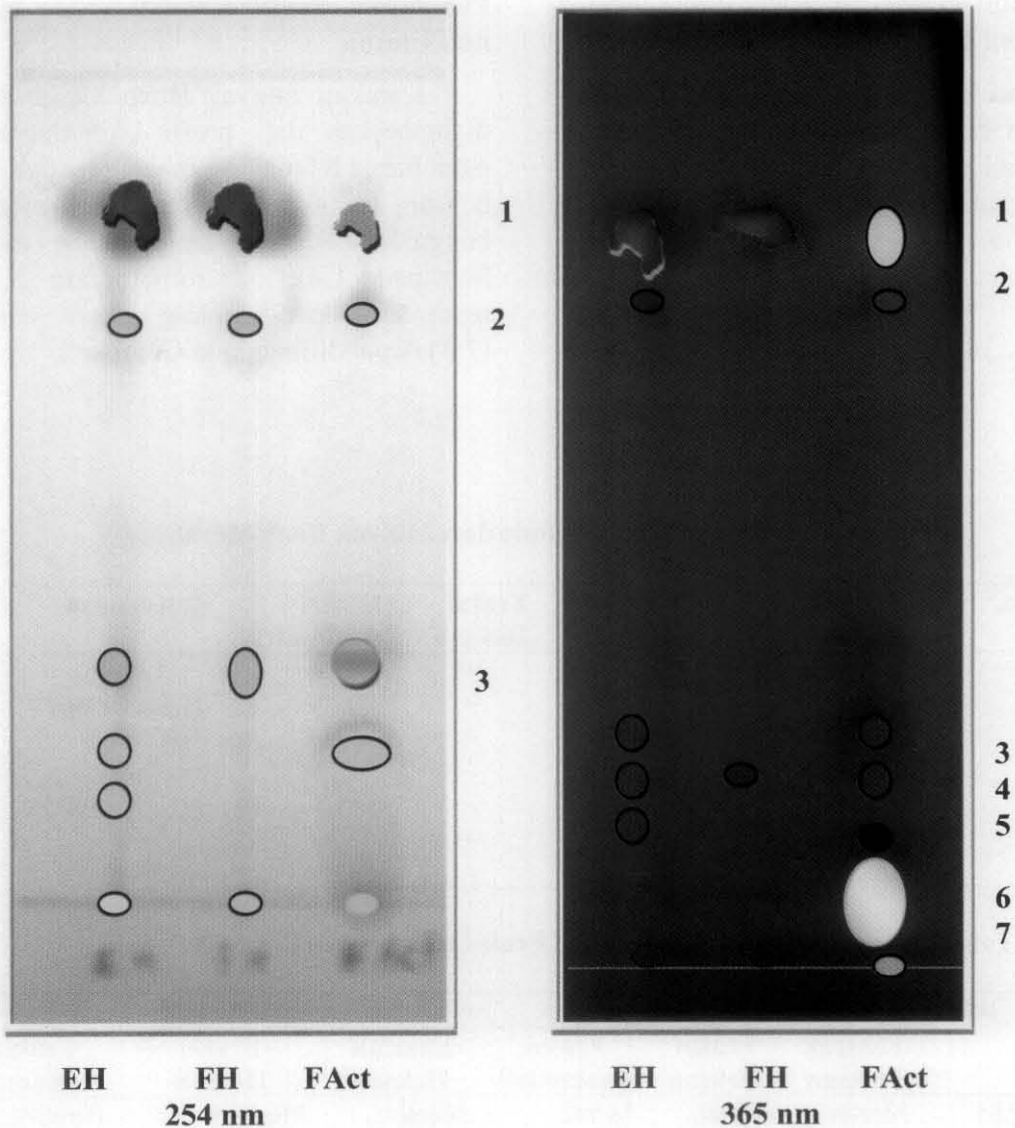
Tabel 2. Profil Kandungan Kimia dari Minyak Buah Merah

No.	Uji Golongan	Ekstrak Heksan	Fraksi Heksan	Fraksi Asetonitril	Keterangan
1.	Triterpenoid	+	+	+	Ungu
2.	Steroid	+	+	+	Hijau Gelap
3.	Fenol	+	+	+	Kuning
4.	Alkaloid	-	-	-	-
5.	Tanin	-	-	-	-
6.	Saponin	-	-	-	-
7.	Turunan kinon	-	-	-	-

Tabel 3. Hasil KLT Ekstrak Heksan, Fraksi Heksan dan Fraksi Asetonitril

Noda	Rf	Visual			UV 366		
		Ekstrak Heksan	Fraksi Heksan	Fraksi Asetonitril	Ekstrak Heksan	Fraksi Heksan	Fraksi Asetonitril
1.	0,85	Merah	Merah	Merah Muda	Merah dilingkari Biru Muda	Merah dilingkari Biru Muda	Biru Muda
2.	0,70	Kuning	Kuning	Kuning	Merah	--	Merah
3.	0,30	Jingga	Jingga	Jingga	Ungu Gelap	Ungu Gelap	Ungu Gelap
4.	0,20	Kuning	--	Kuning	Ungu Gelap	--	Ungu Gelap
5.	0,14	Kuning	--	--	Ungu Gelap	--	Biru Tua
6.	0,10	--	--	--	--	--	Biru Muda
7.	Pada Titik Awal	Kuning	Kuning	Kuning	--	--	Biru Terang

Keterangan: -- : tidak terdapat noda



Gambar 2. Kromatogram Minyak Buah Merah

Keterangan :
 Eluen = heksan : etil asetat 7 : 3.
 EH = ekstrak heksan
 FH = fraksi heksan
 Fact = fraksi asetonitril

Hasil KLT pada ekstrak heksan, dengan pengamatan secara visual maupun dengan sinar UV menunjukkan jumlah noda yang sama. Perbedaan yang terlihat adalah pada fraksi asetonitril terdapat 1 noda yang berbeda, yaitu pada Rf 0,10. Karakter spesifik digambarkan

pula dengan profil minyak buah merah dalam fraksi heksan menggunakan KLT - densitometri pada panjang gelombang 254 nm dan 365 nm .

Toksisitas akut

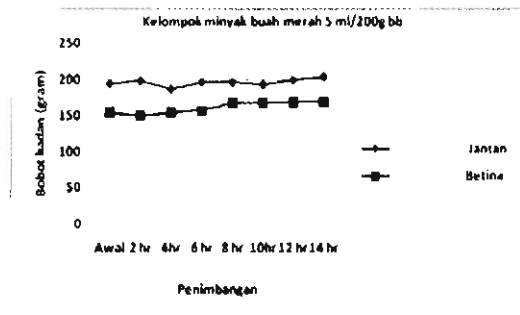
Kelompok hewan jantan dan betina dibagi menjadi 4 kelompok dosis. Dosis tertinggi adalah dosis maksimal, yang secara teknis minyak buah merah dapat masuk ke tubuh hewan coba secara oral. Kelompok dosis diturunkan dengan kelipatan:

- D1 : 5,00 ml/200g bb .
- D 2 : 3,75 ml/200g bb.
- D3 : 2,50 ml/200g bb.
- D4 : 1,25 ml/200g bb.

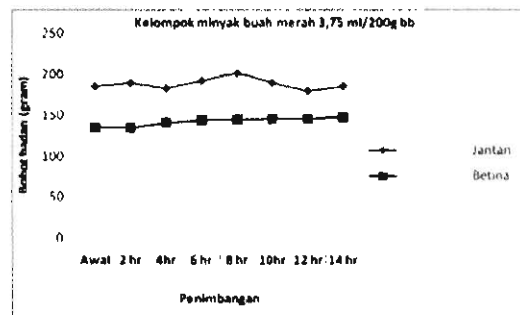
Hasil pengamatan terhadap gejala-gejala toksik, pada ke 4 dosis tidak menunjukkan adanya. Perubahan fisik pada kulit maupun mata dan perubahan tingkah laku seperti gelisah dan menggaruk.

Kesehatan hewan secara umum, dapat dilihat dari penimbangan bobot badan selama 14 hari. Grafik perubahan bobot badan tikus jantan dan betina selama 14 hari pengamatan dapat dilihat ada Gambar 3 sampai 6.

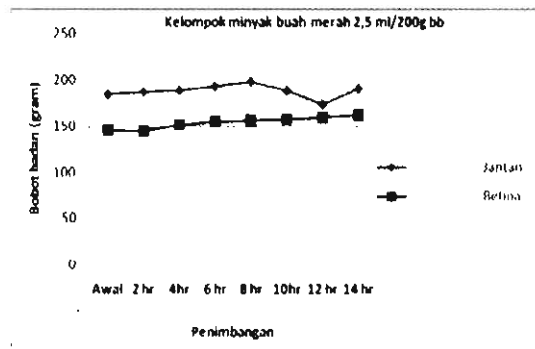
Berdasarkan grafik perubahan bobot badan, pada tikus jantan dengan empat dosis berbeda, terjadi fluktuasi bobot badan. Mulai hari ke 4 terjadi penurunan bobot badan rata-rata, namun naik kembali sampai hari ke 14 pengamatan. Sedangkan pada tikus betina dengan empat dosis yang berbeda terjadi peningkatan bobot badan walaupun tidak secara normal, karena tikus normal akan mengalami kenaikan bobot badan sekitar 5 gram sehari. Perbedaan ke-



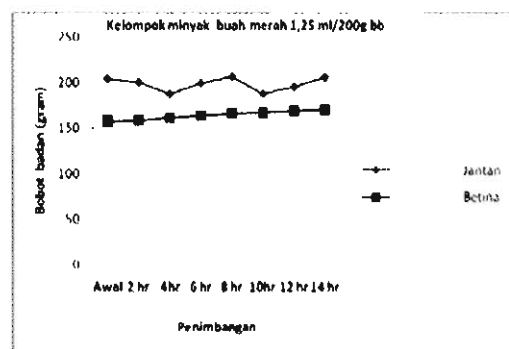
Gambar 3. Grafik Perubahan Bobot badan kelp Minyak Buah merah 5,00 ml/200g bb



Gambar 4. Grafik Perubahan bobot Kelp. Minyak Buah merah 3,75 ml/200g bb



Gambar 5. Grafik Perubahan Bobot badan Kelp. Minyak Buah merah 2,50ml/200g bb



Gambar 6. Grafik Perubahan Bobot Badan Kelp. Minyak Buah Merah 1,25ml/200g bb

naikan bobot badan tikus jantan dan betina dapat dipengaruhi oleh adanya faktor hormonal, penyerapan minyak pada hewan betina lebih besar daripada terhadap hewan jantan yang berpengaruh pada jumlah lemak.

Diketahui bahwa dosis untuk "pengobatan" pada manusia adalah 1 kali 1 sendok makan atau 30 ml/hari (1x dosis Manusia). Nilai ini, jika diekstrapolasi ke penggunaan pada tikus^{10,11}, menjadi 30 x 0,018 adalah 0,53 ml/200g bb. Dengan harga ini, dapat diperkirakan bahwa pemberian 5 ml/kg bb setara dengan 9,4 x dosis manusia. Pemberian hingga dosis terbesar 5 ml/200g bb atau kurang lebih 9,4 x dosis manusia, tidak menimbulkan efek toksik, berupa kelainan perilaku tikus atau kematian. Karena tidak terdapat kematian, maka LD₅₀ dinilai sebagai harga LD₅₀ semu, sampai dengan 5 ml/200g bb., minyak buah merah aman digunakan. Secara garis besar untuk manusia batas aman toksisitas akut sangat besar, mengingat penggunaan minyak buah merah di masyarakat biasanya dilakukan terus menerus, maka sangat diperlukan data keamanan hasil uji toksisitas sub kronis berupa gambaran darah, biolumia darah dan histopatologi

Kesimpulan

Telah diidentifikasi adanya senyawa fenol pada triterpenoid dan steroid pada minyak buah merah dan untuk satu kali dosis pemakaian, tidak menimbulkan

efek toksik hingga 9,4 kali pemakaian. Harga LD₅₀ semu pada tikus secara oral adalah 5 ml/200gbb.

Daftar Rujukan

1. -----, Fenomena Buah Merah. Majalah PLUS⁺. Penebar Swadaya, 2005.
2. -----, Bukti Ilmiah Buah Merah. Trubus, No. 425, 2005.
3. ----, Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat, Departemen Kesehatan, 2000.
4. WHO. *Research Guidenlines For Evaluating The Safety and Efficacy Of Herbal Medicines*. Manila Philipppnes, 1993.
5. Milton, J. *Statistical Methods in the Biology and Health Sciences*. New York, 1991.
6. Budi IM dan Fendi RP. Buah Merah. Penebar Swadaya, 2004.
7. James M. Sinambela, Standarisasi Sediaan Obat Herba, Prosiding Pokjanas Tumbuhan Obat Indonesia XXIII, Fakultas Farmasi Universitas Pancasila, Jakarta, 2004.
8. Ciulei I. *Methodology for Analysis of Vegetable Drugs*, Chemical Industries Branch Division. Industrial Operation UNIDO, Bucharest- Rumania, 1984:11-23.
9. J.B. Harborne. *Metode Fitokimia*, Terjemahan dari *Phytochemical Methods*, 1984, oleh Kosasih Padmawinata dan Iwang Soediro, Penerbit ITB, 1987.
10. Setyawati GV. *Medicinal plants of Indian Council of Medical Research*, New Dehli India, 1992.
11. WHO. *Technical Report Series No. 563. General guide to periode administration in toxicology studies*, 1975: 22.