

EFEK TOKSISITAS EKSTRAK ETANOL KULIT SINGKONG (*MANIHOT ESCULENTA* CRANTZ) TERHADAP MENCIT (*MUS MUSCULUS*)

Vina Fitria^{1*}, Anita Dwi Septiarini², Rahmat Hidayat³

Program Studi Sarjana Farmasi, Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas Duta Bangsa Surakarta^{1, 2, 3}

*Corresponding Author : vinnafitria33@gmail.com

ABSTRAK

Kulit singkong (*Manihot esculenta* Crantz) mengandung beberapa kegunaan salah satunya digunakan untuk pakan ternak dan bahan pengikat pada sediaan tablet. Kulit singkong mengandung kadar *cyanide acid* (HCN) yang cukup tinggi. Namun, belum ada penelitian untuk mengetahui standar keamanan ekstrak kulit singkong terhadap hewan uji. Penelitian ini bertujuan untuk melihat efek toksisitas terhadap mencit jantan. Ekstrak kulit singkong dilakukan ekstraksi dengan menggunakan pelarut etanol 70% dengan metode maserasi. Pada pengujian ini menggunakan metode *Fixed Dose* dengan dosis bertingkat menggunakan antara lain: 5, 50, dan 300 mg/kgBB. Hewan uji yang digunakan adalah mencit jantan yang memiliki berat badan lebih dari 20 gram sebanyak 30 ekor yang dibagi menjadi 6 kelompok. Uji toksisitas ekstrak kulit singkong dilakukan pada mencit dengan cara mengamati perubahan perilaku setelah pemberian dosis tunggal sediaan uji, pengamatan indeks organ dan pengamatan makropatologi organ mencit jantan. Hasil pengamatan setelah pemberian ekstrak kulit singkong pada mencit jantan yaitu mencit mengalami perubahan perilaku *grooming* dan *ptosis*. Pada kelompok ekstrak kulit singkong dosis 300 mg/kgBB mencit mengalami kematian pada jam ke - 24. Berdasarkan *Globally Harmonized System* (GHS) ekstrak kulit singkong ini kemungkinan akan masuk dalam kategori 3 toksisitas akut oral yaitu >50 mg – ≤500 mg/kgBB.

Kata kunci : efek toksisitas, ekstrak kulit singkong, *fixed dose*, LD₅₀

ABSTRACT

Cassava peel (*Manihot esculenta* Crantz) contains several uses, one of which is used as animal feed and as a binding agent in tablet preparations. Cassava skin contains quite high levels of cyanide acid (HCN). However, there has been no research to determine the safety standards for cassava peel extract in test animals. This study aims to see the effects of toxicity on male mice. Cassava peel extract was extracted using 70% ethanol solvent using the maceration method. This test uses the *Fixed Dose* method with graded doses using, among others: 5, 50, and 300 mg/kgBB. The test animals used were 30 male mice weighing more than 20 grams which were divided into 6 groups. The toxicity test of cassava peel extract was carried out on mice by observing changes in behavior after administering a single dose of the test preparation, observing organ indices and observing organ macropathology in male mice. The results of observations after giving cassava peel extract to male mice were that the mice experienced changes in grooming behavior and *ptosis*. In the cassava peel extract group at a dose of 300 mg/kgBW, mice died at the 24th hour. Based on the *Globally Harmonized System* (GHS), this cassava peel extract is likely to fall into category 3 of acute oral toxicity, namely >50 mg – ≤500 mg/kgBB.

Keywords : toxicity effects, cassava peel extract, *fixed dose*, LD₅₀

PENDAHULUAN

Obat tradisional sering digunakan oleh masyarakat karena murah dan mudah diperoleh. Berbagai jenis obat tradisional yang berasal dari tanaman telah diteliti untuk mengetahui kandungan kimia dan manfaatnya. Namun, masih ada beberapa tanaman yang perlu diteliti lebih lanjut untuk memahami potensi toksisitasnya (Putri, 2017). Senyawa toksik merupakan senyawa atau zat yang bersifat racun dan dapat membahayakan apabila berkumpul di dalam tubuh (Hasanah *et al.*, 2020). Salah satu tumbuhan yang mempunyai senyawa toksik yaitu umbi

singkong. Umbi singkong merupakan salah satu sumber karbohidrat yang ketersediaannya sangat luas di Indonesia, bahkan di Indonesia umbi singkong termasuk golongan kelas ketiga setelah beras dan jagung. Pada awalnya, singkong ditanaman untuk dikonsumsi umbinya tetapi seiring berjalannya waktu singkong digunakan sebagai bahan pakan ternak (Tri Hartiningsih *et al.*, 2023). Umbi singkong memiliki bagian lapisan luar atau disebut kulit singkong. Kulit singkong dapat diolah menjadi amilum yang berfungsi sebagai bahan pengikat. Salah satu contoh sediaan farmasi yang memanfaatkan bahan pengikat adalah tablet (Sari *et al.*, 2020). Kulit umbi singkong digunakan untuk bioenergi, pakan hewan, bahkan dapat diolah menjadi kuliner yaitu keripik kulit singkong (Rose, 2019).

Kulit singkong mengandung kadar *cyanide acid* (HCN) yang cukup tinggi. Menurut penelitian dari Balai Besar Industri Hasil Pertanian Bogor, singkong juga mengandung unsur yang tidak diinginkan dan beracun, yaitu HCN (*cyanide acid*) (Dian Nila Sari & Astili, 2018). HCN (*cyanide acid*) yang terkandung di dalam kulit singkong memiliki kadar yang tinggi sekitar 18,0 – 309,4 ppm (Saputro, 2023). Senyawa sianida apabila terurai akan menghasilkan *cyanide acid* (HCN) yang dapat menghambat penyerapan oksigen dalam sistem pernapasan. Hal ini dapat menyebabkan kejang esofagus, kesulitan bernapas, kehilangan kesadaran, dan bahkan kematian. Kematian bisa terjadi dalam beberapa menit jika *cyanide acid* (HCN) tertelan dalam kondisi perut kosong. Dosis sianida yang mematikan pada hewan berkisar antara 0,5 hingga 3,5 mg/kg berat badan. (Fazriyawati *et al.*, 2018). Menurut pedoman dari *World Health Organization* (WHO), bahan atau zat yang digunakan untuk pengobatan, baik pada manusia maupun hewan, harus melalui tahap uji praklinik dan uji klinik. Uji praklinik harus dilakukan sebelum uji klinik. Tujuan dari uji praklinik adalah untuk menentukan dan memastikan tingkat keabsahan khasiat dan keamanan bahan atau zat uji, yang melibatkan uji toksisitas dan uji aktivitas pada hewan percobaan (Mustapa *et al.*, 2018).

Uji toksisitas terdiri dari berbagai macam uji salah satunya adalah uji toksisitas akut. Uji toksisitas akut merupakan salah satu bagian dari uji praklinik yang digunakan untuk mengukur efek toksik dalam suatu senyawa. Toksisitas akut mengacu sesudah pemberian dosis tunggal secara oral dalam waktu 24 jam yang menyebabkan efek toksik. Dosis lethal tengah atau sering disebut LD₅₀ terdiri dari data kuantitatif dan data kualitatif. Pada data kuantitatif merupakan tolak ukur statistik setelah pemberian dosis tunggal yang sering digunakan untuk menyatakan tingkatan dosis toksik yang menyebabkan kematian. Sedangkan data kualitatif yaitu gejala toksik yang ditimbulkan oleh hewan uji (Mustapa *et al.*, 2018). Uji toksisitas akut terdapat beberapa metode yaitu metode *Fixed Dose Method*, *Acute Toxic Class Method* dan *Up and Down Procedure Method* (Lukito, 2022). Pada pengujian ini menggunakan metode *Fixed Dose* dengan dosis bertingkat menggunakan antara lain: 5, 50, dan 300 mg/kgBB.

Tujuan dilakukannya penelitian ini adalah untuk mengetahui efek toksisitas yang terjadi pada mencit jantan dalam waktu 24 jam sampai dengan 14 hari setelah pemberian ekstrak kulit singkong. Selain itu, penelitian ini bertujuan untuk mengetahui tingkatan toksisitas ekstrak kulit singkong.

METODE

Penelitian ini termasuk dalam kategori penelitian eksperimental menggunakan hewan uji mencit untuk mengetahui efek toksisitas pada dosis tertentu. Subjek penelitian pengambilan sampel dilakukan secara berkala. Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Farmasi Universitas Duta Bangsa Surakarta. Populasi dalam penelitian ini terdiri dari simplisia kulit singkong (*Manihot esculenta* C.) bagian dalam yang diperoleh dari Kabupaten Pati, Jawa Tengah. Penelitian ini menggunakan tiga variabel, variabel bebas adalah ekstrak etanol kulit singkong (*Manihot esculenta* C.) yang diberikan kepada mencit dalam berbagai dosis. Variabel tergantung meliputi efek toksisitas ekstrak etanol kulit singkong terhadap mencit jantan, yang

dinilai melalui gejala toksik dan penentuan nilai LD₅₀. Variabel terkendali dalam penelitian ini meliputi berat badan mencit, kondisi lingkungan tempat tinggal mencit, dan perlakuan yang diberikan oleh peneliti.

Hewan uji yang digunakan dalam penelitian ini adalah 30 ekor mencit jantan dengan berat badan minimal 20 gram. Setiap mencit ditimbang dan diberi tanda, lalu dibagi menjadi 6 kelompok yang masing-masing terdiri dari 5 ekor mencit. Penelitian ini menggunakan metode *fixed dose* dengan dosis bertingkat, yaitu 5, 50, dan 300 mg/kgBB pada hewan uji. Kelompok kontrol normal diberikan aquades, kelompok kontrol negatif diberikan Na CMC 1%, dan kelompok kontrol positif diberikan sianida 0,5 mg/kgBB. Mencit diberikan sediaan uji secara oral sesuai dosis yang telah ditentukan. Gejala klinis diamati pada 30 menit pertama setelah pemberian dosis, kemudian setiap 4 jam selama 24 jam. Gejala toksik yang perlu diamati meliputi : perubahan perilaku (*grooming* dan *haffner*), perubahan *neurological profile* (*tremor*, *reflek pineal*, dan *reflek kornea*), dan perubahan profil otonomik (*ptosis*). Pengamatan lainnya meliputi : pengamatan berat badan mencit, bobot organ mencit, indeks organ mencit, dan makropatologi organ mencit.

Data yang dikumpulkan dianalisis secara statistik menggunakan SPSS 26, terutama untuk indeks organ. Data LD₅₀ dianalisis dengan menggunakan tabel letalitas untuk menentukan tingkat toksisitas ekstrak kulit singkong. Pada hari ke-15, dilakukan pemeriksaan makropatologi pada organ hewan uji yang menerima perlakuan dibandingkan dengan kelompok kontrol. Data tersebut digunakan untuk mengevaluasi toksisitas pada organ mencit. Perhitungan indeks organ dianalisis menggunakan uji *Kolmogorov-Smirnov* untuk memeriksa distribusi data setiap kelompok, sementara uji *Levene* digunakan untuk menilai homogenitas data. Jika data berdistribusi normal dan homogen, uji ANOVA dilakukan untuk menentukan adanya perbedaan signifikan antara kelompok perlakuan. Jika ditemukan perbedaan, dilanjutkan dengan uji *Post-Hoc Test*.

HASIL

Tabel 1. Uji Pendahuluan

Dosis	Jam ke-						
	0	4	8	12	16	20	24
Ekstrak 5 mg/kgBB	C	C	B	B	B	C	C

Keterangan :

A = Mati

B = Menunjukkan gejala toksik

C = Tidak menimbulkan gejala toksik

Berdasarkan hasil uji pendahuluan ekstrak kulit singkong dapat disimpulkan bahwa dosis 5 mg/kgBB dapat digunakan untuk pemilihan dosis awal pada uji utama dikarenakan dosis tersebut memberikan efek toksik ringan yaitu pada jam ke – 8 mengalami perubahan perilaku *grooming*, jam ke – 12 mengalami perubahan perilaku *grooming* dan jam ke – 16 mengalami perubahan perilaku *grooming* dan *ptosis*. Setelah dilakukan uji pendahuluan, maka selanjutnya adalah pengujian utama ekstrak kulit singkong dengan dosis yang telah ditentukan. Pengujian ini menggunakan 5 ekor mencit pada masing – masing kelompok sediaan uji. Pengamatan dilakukan selama 24 jam pertama setiap 4 jam sekali.

Tabel 2. Uji Utama

Dosis	Jam ke-						
	0	4	8	12	16	20	24
Ekstrak 5 mg/kgBB	C	C	B	B	C	C	C
Ekstrak 50 mg/kgBB	C	C	B	B	B	B	B
Ekstrak 300 mg/kgBB	C	B	B	B	B	B	A

Berdasarkan hasil uji utama ekstrak kulit singkong dosis awal mengalami gejala toksisitas pada jam ke-8 – ke-12, dosis 50 mg/kgBB mengalami gejala toksisitas pada jam ke-8 – ke-24, dan dosis 300 mg/kgBB mengalami gejala toksisitas pada jam ke-4 – ke-24. Terdapat satu ekor mencit yang mengalami kematian di jam ke – 24 pada dosis ekstrak etanol kulit singkong 300 mg/kgBB, dapat disimpulkan bahwa nilai *cut-off* LD₅₀ ekstrak etanol kulit singkong yaitu 300 mg/kgBB. Berdasarkan *Globally Harmonized System* (GHS) ekstrak kulit singkong ini kemungkinan akan masuk dalam kategori 3 toksisitas akut oral yaitu >50 mg – ≤500 mg/kgBB.

Tabel 3. Kategori Toksisitas Sediaan Uji

Tingkat Toksisitas	LD ₅₀ oral	Klasifikasi
1	≤5 mg/kgBB	Super toksik
2	5-50 mg/kgBB	Sangat toksik
3	>50-500 mg/kgBB	Toksik
4	>500-2000 mg/kgBB	Toksik sedang
5	>2000-5000 mg/kgBB	Toksik ringan
6	>5000 mg/kgBB	Tidak toksik

Tabel 4. Hasil Persentase Perubahan Perilaku *Grooming*

Kelompok dosis	<i>Grooming</i> (%)						
	Jam ke -						
	0	4	8	12	16	20	24
Normal	0	0	0	0	0	0	0
Kontrol negatif Na.CMC 1%	0	0	0	0	0	0	0
Kontrol positif sianida 0,5 mg/kgBB	-	-	-	-	-	-	-
Dosis I ekstrak 5 mg/kgBB	0	0	60	20	0	0	0
Dosis II ekstrak 50 mg/kgBB	0	0	40	60	20	0	0
Dosis III ekstrak 300 mg/kgBB	0	60	40	40	80	40	0

Berdasarkan tabel 4 menunjukkan perilaku mencit dengan adanya perubahan perilaku menjilat tubuhnya. Apabila *grooming* berlebihan hal tersebut menunjukkan adanya stimulasi sistem saraf pusat, apabila *grooming* terjadi penurunan menunjukkan bahwa adanya tekanan sistem saraf pusat. Hasil positif memiliki efek toksik apabila mencit menunjukkan perubahan perilaku *grooming*. Setelah pemberian sediaan uji beberapa mencit mengalami perubahan perilaku *grooming* pada semua kelompok dosis ekstrak etanol kulit singkong khususnya pada dosis 300 mg/kgBB menunjukkan gejala *grooming* paling banyak daripada kelompok dosis ekstrak yang lainnya, pada kelompok dosis ekstrak etanol kulit singkong tidak mengalami perubahan yang terlalu signifikan pada perubahan perilaku *grooming*. Kelompok normal dan kelompok negatif tidak menunjukkan adanya perilaku *grooming* pada mencit, sehingga dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol kulit singkong dapat berpengaruh terhadap efek toksik berupa perubahan perilaku *grooming*.

Pengamatan gejala toksik berikutnya melibatkan perubahan perilaku *haffner*, yang mengukur respon mencit terhadap rasa sakit dengan cara menjepit ekornya menggunakan pinset. Apabila mencit tidak menunjukkan reaksi terhadap rasa sakit tersebut, ini mengindikasikan bahwa sediaan uji yang diberikan secara oral dapat menimbulkan efek toksik. Sebaliknya, apabila mencit merespon segera terhadap rasa sakit, hal ini menunjukkan bahwa sediaan uji tidak menyebabkan efek toksik pada mencit.

Berdasarkan tabel 5 dapat dilihat bahwa semua kelompok perlakuan mencit, termasuk kelompok kontrol normal dan negatif, menunjukkan respons terhadap rasa sakit saat ekor mereka dijepit dengan pinset. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak etanol kulit singkong tidak memiliki efek toksik dan tidak mempengaruhi perilaku *haffner* pada mencit. Perubahan sistem saraf pada mencit yang pertama adanya efek gemetar atau *tremor*. Pengamatan ini yaitu pada saat mencit beraktivitas maupun dalam keadaan diam ada bagian dari tubuh mencit yang

mengalami *tremor*. Apabila mencit mengalami gemetar (*tremor*) menunjukkan adanya efek toksik. Apabila mencit tidak mengalami *tremor* menunjukkan bahwa tidak adanya efek toksik.

Tabel 5. Hasil Persentase Perubahan Perilaku *Haffner*

Kelompok dosis	<i>Haffner</i> (%)						
	Jam ke -						
	0	4	8	12	16	20	24
Normal	0	0	0	0	0	0	0
Kontrol negatif Na.CMC 1%	0	0	0	0	0	0	0
Kontrol positif sianida 0,5 mg/kgBB	-	-	-	-	-	-	-
Dosis I ekstrak 5 mg/kgBB	0	0	0	0	0	0	0
Dosis II ekstrak 50 mg/kgBB	0	0	0	0	0	0	0
Dosis III ekstrak 300 mg/kgBB	0	0	0	0	0	0	0

Tabel 6. Hasil Jumlah Mencit yang Mengalami *Tremor*

Kelompok dosis	<i>Tremor</i> (%)						
	Jam ke -						
	0	4	8	12	16	20	24
Normal	0	0	0	0	0	0	0
Kontrol negatif Na.CMC 1%	0	0	0	0	0	0	0
Kontrol positif sianida 0,5 mg/kgBB	-	-	-	-	-	-	-
Dosis I ekstrak 5 mg/kgBB	0	0	0	0	0	0	0
Dosis II ekstrak 50 mg/kgBB	0	0	0	0	0	0	0
Dosis III ekstrak 300 mg/kgBB	0	0	0	0	0	0	0

Berdasarkan tabel 6 setiap kelompok yang diamati tidak terlihat adanya gemetar (*tremor*) sama sekali sehingga dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol kulit singkong tidak menyebabkan efek toksik berupa gemetar. Perubahan pada sistem saraf mencit selanjutnya yaitu ada tidaknya respon terhadap rangsangan yang diterima di telinga mencit. Pengamatan ini dilakukan dengan cara memasukkan *cotton bud* dalam telinga mencit. Mencit dikatakan normal apabila mencit merespon dengan cara menghindar ketika diberi rangsangan pada telinganya. Hasil positif memiliki efek toksik berupa *reflek pineal* (penghambatan terhadap saraf sensorik) apabila mencit tidak merespon terhadap rangsangan. Apabila mencit merespon rangsangan dengan cara menghindar menunjukkan bahwa mencit tidak mengalami gejala toksik.

Tabel 7. Hasil Jumlah Mencit yang Mengalami *Reflek Pineal*

Kelompok dosis	<i>Refleks Pineal</i> (%)						
	Jam ke -						
	0	4	8	12	16	20	24
Normal	0	0	0	0	0	0	0
Kontrol negatif Na.CMC 1%	0	0	0	0	0	0	0
Kontrol positif sianida 0,5 mg/kgBB	-	-	-	-	-	-	-
Dosis I ekstrak 5 mg/kgBB	0	0	0	0	0	0	0
Dosis II ekstrak 50 mg/kgBB	0	0	0	0	0	0	0
Dosis III ekstrak 300 mg/kgBB	0	0	0	0	0	0	0

Berdasarkan tabel 7 dapat dilihat bahwa setiap kelompok perlakuan dapat merespon rangsangan dengan cara langsung menghindar ketika *cotton bud* masuk kedalam telinga mencit, sehingga dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol kulit singkong tidak dapat menyebabkan efek toksik berupa penghambatan saraf sensorik. Perubahan terakhir pada sistem saraf mencit mencakup adanya atau tidak adanya respon terhadap rangsangan yang diberikan pada kornea mata. Setiap kelompok diuji dengan memberikan sentuhan pada mata menggunakan *cotton bud*. Mencit normal akan merespon rangsangan dengan cara langsung

menutup mata pada saat diberi perlakuan. Hasil positif memiliki efek toksik berupa *reflek kornea* (gangguan pada sistem saraf pusat) apabila mencit tidak langsung menutup mata dan tidak merespon rangsangan ketika diberi perlakuan. Apabila mencit merespon rangsangan dengan cara menutup mata menunjukkan bahwa tidak adanya efek toksik.

Tabel 8. Hasil Jumlah Mencit yang Mengalami Reflek Kornea

Kelompok dosis	Reflek Kornea (%)						
	Jam ke -						
	0	4	8	12	16	20	24
Normal	0	0	0	0	0	0	0
Kontrol negatif Na.CMC 1%	0	0	0	0	0	0	0
Kontrol positif sianida 0,5 mg/kgBB	-	-	-	-	-	-	-
Dosis I ekstrak 5 mg/kgBB	0	0	0	0	0	0	0
Dosis II ekstrak 50 mg/kgBB	0	0	0	0	0	0	0
Dosis III ekstrak 300 mg/kgBB	0	0	0	0	0	0	0

Berdasarkan tabel 8 dapat dilihat bahwa setiap kelompok perlakuan mencit dapat merespon rangsangan dengan baik dengan cara langsung menutup mata ketika *cotton bud* masuk kedalam mata mencit. Setiap kelompok perlakuan mencit tidak mengalami gangguan pada sistem saraf pusat, maka dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol kulit singkong tidak dapat menyebabkan efek toksik berupa gangguan pada sistem saraf pusat. Pengamatan perubahan profil autonomik (*ptosis*) adalah mencit akan menutup mata seperti mengantuk. Hasil positif memiliki efek toksik apabila mencit menutup mata seperti mengantuk.

Tabel 9. Hasil Persentase Jumlah Mencit yang Mengalami Ptosis

Kelompok dosis	Ptosis (%)						
	Jam ke -						
	0	4	8	12	16	20	24
Normal	0	0	0	0	0	0	0
Kontrol negatif Na.CMC	0	0	0	0	0	0	0
Kontrol positif sianida 0,5 mg/kgBB	-	-	-	-	-	-	-
Dosis I ekstrak 5 mg/kgBB	0	0	0	0	0	0	0
Dosis II ekstrak 50 mg/kgBB	0	0	40	80	40	60	80
Dosis III ekstrak 300 mg/kgBB	0	20	60	40	40	60	40

Tabel 10. Rata - Rata Indeks Organ Mencit

Rata-rata bobot organ (g) \pm SD (n=5)						
Kelompok dosis	Usus	Hati	Ginjal	Jantung	Lambung	
Normal	0,114 \pm 0,006	0,104 \pm 0,005	0,020 \pm 0,002	0,011 \pm 0,001	0,041 \pm 0,016	
Na.CMC 1%	0,117 \pm 0,009	0,102 \pm 0,008	0,021 \pm 0,003	0,009 \pm 0,002	0,028 \pm 0,012	
sianida 0,5 mg/kgBB	0,113 \pm 0,018	0,102 \pm 0,005	0,019 \pm 0,001	0,010 \pm 0,002	0,021 \pm 0,004	
Ekstrak 5 mg/kgBB	0,109 \pm 0,010	0,099 \pm 0,008	0,019 \pm 0,003	0,009 \pm 0,002	0,019 \pm 0,003	
Ekstrak 50 mg/kgBB	0,107 \pm 0,008	0,097 \pm 0,007	0,019 \pm 0,003	0,008 \pm 0,001	0,019 \pm 0,003	
Ekstrak 300 mg/kgBB	0,101 \pm 0,006	0,094 \pm 0,007	0,019 \pm 0,003	0,008 \pm 0,002	0,019 \pm 0,005	

Berdasarkan tabel 9 mencit yang mengalami *ptosis* yaitu mencit menutup mata seperti mengantuk pada semua kelompok dosis sediaan uji ekstrak, hal ini mungkin disebabkan oleh efek sedatif dari sediaan uji yang diberikan. Setiap kelompok sebelum diberikan perlakuan

tidak mengalami *ptosis*, dan pada kelompok dosis kontrol tidak menunjukkan efek menutup mata seperti mengantuk, sehingga dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol kulit singkong memberikan efek toksik berupa sedasi terhadap mencit.

Berdasarkan rata-rata indeks organ mencit yang disajikan dalam tabel di atas, terlihat bahwa tidak ada perbedaan signifikan dalam indeks organ usus, hati, ginjal, dan jantung antara kelompok yang diberikan sediaan uji. Terdapat selisih indeks organ lambung yang signifikan antara kelompok sediaan uji.

PEMBAHASAN

Penelitian ini menggunakan zat aktif ekstrak etanol kulit singkong karena kulit umbi singkong mengandung lebih banyak racun asam sianida dibandingkan dengan daging umbi, tergantung pada rasa singkong tersebut. Jika kulit singkong memiliki rasa manis, kandungan asam sianidanya cenderung rendah, sedangkan kulit singkong dengan rasa pahit mengandung asam sianida dalam jumlah yang lebih tinggi. Kulit singkong memiliki kadar cyanide acid (HCN) yang relatif tinggi (Dian Nila Sari & Astili, 2018). Salah satu senyawa yang memiliki efek toksik adalah flavonoid dan tanin. Senyawa tersebut bersifat fenolik sebagai antioksidan. Senyawa tersebut banyak ditemukan pada tanaman, salah satunya adalah kulit umbi singkong (Risnadewi *et al.*, 2019). Tanin yang terhidrolisis dapat menghambat penyerapan zat besi, yang berpotensi menyebabkan anemia dan memiliki tingkat toksisitas yang lebih tinggi, sementara tanin yang terkondensasi umumnya lebih aman digunakan (Sutaryono *et al.*, 2019). Kandungan tanin dalam ekstrak kulit umbi singkong disebabkan oleh adanya senyawa karbohidrat dalam umbi singkong, yang dapat dihidrolisis menjadi glukosa oleh asam, menghasilkan tanin terhidrolisis (Gagola *et al.*, 2014).

Pengamatan toksisitas pada mencit yang diamati meliputi : perubahan perilaku (*grooming dan haffner*), perubahan *neurological profile* (*tremor, reflek pineal, dan reflek kornea*), dan perubahan profil otonomik (*ptosis*). Pengamatan dilakukan setiap 4 jam sekali selama 24 jam pertama (Arraissa, 2017). Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak etanol kulit singkong dapat memberikan efek toksik pada mencit jantan. Pada dosis ekstrak etanol kulit singkong yang telah ditentukan dapat menimbulkan efek toksik terhadap mencit seperti perilaku *grooming* atau menjilat tubuhnya terus menerus, dikarenakan setelah pemberian sediaan uji beberapa mencit mengalami perubahan perilaku *grooming* pada semua kelompok dosis ekstrak etanol kulit singkong khususnya pada dosis 300 mg/kgBB menunjukkan gejala *grooming* paling banyak daripada kelompok dosis ekstrak yang lainnya, pada kelompok dosis ekstrak etanol kulit singkong tidak mengalami perubahan yang terlalu signifikan pada perubahan perilaku *grooming*. Kelompok normal dan kelompok negatif tidak menunjukkan adanya perilaku *grooming* pada mencit, sehingga dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol kulit singkong dapat berpengaruh terhadap efek toksik berupa perubahan perilaku *grooming*.

Efek toksik yang lainnya yaitu *ptosis* atau mencit menutup mata seperti mengantuk, dikarenakan setiap kelompok sebelum diberikan perlakuan tidak mengalami *ptosis*, dan pada kelompok dosis kontrol tidak menunjukkan efek menutup mata seperti mengantuk, sehingga dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol kulit singkong memberikan efek toksik berupa sedasi terhadap mencit. Selama masa pengamatan, apabila mencit mengalami kematian, segera dilakukan pembedahan dan diambil organ-organ mencit kemudian ditimbang. Sementara itu, mencit yang masih hidup setelah periode 14 hari pemberian sediaan uji maka mencit tersebut harus dibius menggunakan kapas yang dibasahi dengan kloroform yang dimasukkan kedalam kaleng toples kemudian ditutup rapat. Terdapat satu ekor mencit yang mengalami kematian di jam ke – 24 pada dosis ekstrak etanol kulit singkong 300 mg/kgBB, dapat disimpulkan bahwa nilai *cut-off* LD₅₀ ekstrak etanol kulit singkong yaitu 300 mg/kgBB. Berdasarkan *Globally Harmonized System* (GHS) ekstrak kulit singkong ini kemungkinan akan masuk dalam kategori

3 toksisitas akut oral yaitu >50 mg – ≤ 500 mg/kgBB (Lukito, 2022). Mencit yang mati kemudian dibedah menggunakan skalpel untuk diambil organnya meliputi usus, hati, ginjal, jantung, dan lambung kemudian ditimbang. Selanjutnya dilakukan pengamatan terhadap indeks organ dengan membandingkan berat organ dengan berat badan mencit jantan.

Data indeks organ yang diperoleh kemudian dianalisis untuk menentukan distribusi normal menggunakan uji *Kolmogorov-Smirnov*, guna membandingkan perbedaan antara organ yang diberikan perlakuan normal, kontrol negatif, kontrol positif, dan perlakuan ekstrak. Selanjutnya, uji homogenitas dilakukan dengan uji *Levene*. Data harus memenuhi syarat distribusi normal dan homogenitas (nilai $p \geq 0,05$) sebelum dilakukan uji ANOVA. Jika data sudah terdistribusi normal dan homogen, uji ANOVA *one-way* dapat diterapkan untuk mengevaluasi perbedaan signifikan antara kelompok perlakuan. Jika data tidak memenuhi syarat distribusi normal, maka dilanjutkan dengan uji *Post-Hoc*. Tujuan dari uji ANOVA adalah untuk menentukan apakah terdapat perbedaan yang signifikan antara kelompok yang diuji.

Berdasarkan hasil uji normalitas *Kolmogorov-Smirnov* dan uji homogenitas *Levene*, diperoleh nilai signifikansi (sig) $> 0,05$, yang menunjukkan bahwa data terdistribusi normal dan homogen. Dengan demikian, analisis dilanjutkan menggunakan uji ANOVA *one-way*. Hasil uji ANOVA *one-way* menunjukkan bahwa untuk indeks organ usus, hati, ginjal, dan jantung, nilai signifikansi $\geq 0,05$, yang berarti tidak terdapat perbedaan signifikan antara kelompok perlakuan. Namun, untuk indeks organ lambung, hasil uji ANOVA *one-way* menunjukkan nilai signifikansi $\leq 0,05$, yang mengindikasikan adanya perbedaan yang signifikan pada kelompok kontrol negatif dan normal dengan kontrol positif dan kelompok ekstrak kulit singkong.

Pengamatan selanjutnya adalah pengamatan terhadap makropatologi organ, hasil pengamatan menunjukkan adanya perubahan warna pada organ mencit. Pada kelompok kontrol positif organ usus dan hati terlihat kekuningan daripada kelompok kontrol normal dan kelompok kontrol negatif. Pada dosis sediaan uji ekstrak kulit singkong juga terdapat organ usus sedikit kekuningan. Maka, hal tersebut dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol kulit singkong (*Manihot esculenta* Crantz) dapat mempengaruhi warna dari organ usus mencit jantan. Zat yang bersifat toksik dapat mempengaruhi perubahan warna organ usus, hati, ginjal, dan jantung menjadi warna kuning atau hitam. Warna kuning dapat mengindikasikan adanya perlemakan pada organ (Lestari *et al.*, 2022).

KESIMPULAN

Ekstrak etanol kulit singkong dapat memberikan efek toksik terhadap mencit. Gejala toksik yang ditimbulkan hewan uji pada dosis ekstrak etanol kulit singkong menunjukkan adanya perubahan perilaku *grooming* atau menjilat tubuhnya terus menerus dan perubahan perilaku *ptosis* atau mencit menutup mata seperti mengantuk. Indeks organ usus, hati, ginjal dan jantung tidak ada perbedaan yang signifikan tetapi indeks organ usus ada perbedaan yang cukup signifikan. Terdapat perubahan warna organ usus pada dosis ekstrak menjadi agak kekuningan. Nilai LD_{50} ekstrak etanol kulit singkong sebesar 300 mg/kgBB yang diukur klasifikasi tabel letalitas, dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol kulit singkong termasuk dalam kategori toksik.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terimakasih kepada kedua orang tua yang selalu memberikan dukungan baik secara moril maupun material pembimbing I dan pembimbing II yang telah memberikan bimbingan, motivasi, nasihat dan arahan kepada penulis, serta teman - teman

seperjuangan yang telah berperan banyak, memberikan semangat, dukungan, bantuan, pengalaman, dan pembelajaran kepada penulis selama di bangku perkuliahan.

DAFTAR PUSTAKA

- Arraissa, N. (2017). Uji Toksisitas Akut Ekstrak Etanol Daun Bayam Duri (*Amaranthus spinosus* L.) Terhadap Mencit Putih Betina Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi Surakarta 2017. *Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi Surakarta*.
- Dian Nila Sari, F., & Astili, R. (2018). Kandungan Asam Sianida Dendeng Dari Limbah Kulit Singkong The Level of Cyanide Acid in Cassava's Skinned Flaky. *Jurnal Dunia Gizi*, 1(1), 20–29.
- Fazriyawati, A. N., Hardiono, & Rahmawati. (2018). Efektivitas Singkong Mentah (*Manihot Esculenta*) Sebagai Rodentisida Nabati Terhadap Pengendalian Tikus Mencit (*Mus Musculus*). *Jurnal Kesehatan Lingkungan: Jurnal Dan Aplikasi Teknik Kesehatan Lingkungan*, 15(2), 661–666.
- Gagola, C., Suryanto, E., & Wewengkang, D. (2014). Aktivitas Antioksidan Dari Ekstrak Fenolik Cortex Umbi Ubi Kayu (*Manihot esculenta*) Daging Putih Dan Daging Kuning Yang Diambil Dari Kota Melonguane Kabupaten Kepulauan Talaud. *Pharmacon Jurnal Ilmiah Farmasi*, 3(2), 127–133.
- Hasanah, N., Nursobah, I., & Ismaya, N. wulan A. (2020). Toksisitas Ekstrak Umbi Singkong (*Manihot esculenta* Crantz). *Edu Dharma Journal: Jurnal Penelitian Dan Pengabdian Masyarakat*, 4(1), 87.
- Lestari, A. A., Herlina, Amriani, A., & Wijaya, D. P. (2022). Accute Toxicity Of Extract From Melinjo (*Gnetum Gnemon* L) Leaf With Fixed Dose Procedure Method. *Indonesian Journal of Pharmaceutical Science and Technology*, 9(3), 140.
- Lukito, P. K. (2022). Panduan penyusunan protokol uji praklinik uji toksisitas akut. *Direktural Registrasi Obat Tradisional, Suplemen Kesehatan Dan Kosmetik BPOM*, 1–23.
- Mustapa, M. A., Tuloli, T. S., & Mooduto, A. M. (2018). Uji Toksisitas Akut Yang Diukur Dengan Penentuan LD50 Ekstrak Etanol Bunga Cengkeh (*Syzygium aromaticum* L.) Terhadap Mencit (*Mus musculus*) Menggunakan Metode Thompson-Weil. *Fakultas Olahraga Dan Kesehatan, Universitas Negeri Gorontalo*.
- Putri, R. B. (2017). Uji Toksisitas Ekstrak Daun Singkong (*Manihot esculenta* Crantz) Terhadap Larva *Artemisia salina* Leach Dengan Metode Brine Shrimp Lethality. *Jurusan Biologi Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Negeri Semarang*.
- Risnadewi, W. N., Turisia, N. A., Nurhidayati, A., & Hamdin, C. D. (2019). Efektivitas Sediaan Salep Limbah Kulit Singkong Sebagai Penyembuh Luka. *Jurnal Sains Teknologi & Lingkungan*, 5(2), 133–140.
- Saputro, G. A. S. (2023). *Formulasi Kulit Singkong Dan Ikan Lele (Clarias batrachus) Terhadap Karakteristik Fisikokimia Dan Organoleptik Dendeng Kulit Singkong* (Vol. 4, Issue 1).
- Sari, N. N., Amananti, W., & Santso, J. (2020). Pengaruh Penambahan Amylum Limbah Kulit Singkong sebagai Bahan Pengikat terhadap Sifat Fisik Tablet Kunyah dari Limbah Cangkang Telur. *Jurnal Politeknik Harapan Bersama Tegal*, 1–11.
- Sutaryono, Larasati, T. D., & Indraswari, Y. (2019). Penentuan Jenis Senyawa Tanin Pada Ekstrak Etanol Buah Pronojiwo (*Euchresta horsfieldii* (Lesch.) Benn). *Conference Of Health And Social Humaniora*, 204–210.
- Tri Hartiningsih, W., Huda, E., & Kustini, H. (2023). Pelatihan Olahan Makanan Berbahan Singkong Di Desa Tanjung, Kampung Purba, Dayu, Gondangrejo, Karanganyar. *Jurnal Edukasi Pengabdian Masyarakat*, 2(1), 17–22.