

UJI TOKSISITAS KRIM TIPE O/W MINYAK ATSIRI BUNGA CENGKEH (*Syzygium aromaticum* (L) Merrill dan perry) TERHADAP PROFIL HISTOPATOLOGI GINJAL DAN HATI PADA MENCIT *Balb/c*

Gina Lestari¹, Nining Sugihartini², Sapto Yuliani²

¹*Sekolah Tinggi Kesehatan Al-Fatah Bengkulu*

²*Program Studi Farmasi Universitas Ahmad Dahlan Yogyakarta*

Emai: ghinafathur@gmail.com

ABSTRAK

Minyak atsiri bunga cengkeh memiliki aktivitas sebagai antiinflamasi didalamnya memiliki kandungan zat yaitu eugenol dimana Zat Eugenol ini memiliki aktivitas biologis sebagai antioksidan dan antinflamasi, hasil penelitian sebelumnya menyebutkan bahwa krim tipe O/W konsentrasi minyak atsiri 5% dapat sebagai antiinflamasi. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui apakah ada pengaruh penambahan *enhancer* terhadap uji toksisitas krim Minyak Atsiri Bunga Cengkeh (MABC) dalam basis krim tipe O/W. Metode Penelitian ini merupakan penelitin eksperimental yang menggunakan hewan percobaan mencit balb/c, menguji krim tipe O/W terhadap toksisitas MABC 2,5% yang mengandung *enhancer asam oleat 50% propilen glikol 50%*. Dengan membagi menjadi dua kelompok uji yaitu kelompok normal dan kelompok uji krim tipe M/A dengan masing-masing hewan uji 10 ekor yang diuji selama 24 jam setelah pemberian sediaan uji, dan 14 hari setelah pemberian sediaan uji, dengan melihat profil histopatologi pada hati dan ginjal pada mencit tersebut. Uji yang dilakukan pada penelitian ini merupakan jenis Toksisitas akut menggunakan hewan percobaan mencit *balb/c*. Hasil dari penelitian uji toksisitas akut selama 24 jam setelah pemberian sediaan uji dan 14 hari setelah pemberian sediaan uji menunjukkan gambaran histopatologi pada ginjal dan hati pada mencit *balb/c* menunjukkan tidak ada perubahan fisik. Sehingga tidak menyebabkan toksisitas. Berdasarkan hasil uji dapat disimpulkan bahwa formulasi krim minyak atsiri bunga cengkeh tipe M/A tidak menyebabkan toksisitas sehingga aman untuk digunakan.

Kata Kunci : Minyak atsiri, bunga cengkeh, krim tipe O/W, Toksisitas

PENDAHULUAN

Minyak Atsiri Bunga Cengkeh (MABC) dipilih sebagai bahan aktif dalam pembuatan sediaan topical sebagai sediaan anti inflamasi dalam bidang farmasi. Komponen kandungan dalam Minyak Atsiri Bunga Cengkeh (MABC) salah satunya eugenol ini memiliki jumlah terbesar yaitu 70–80%, (Nurdjanah, 2004). 4- sekutu- 2

metoksifenol, atau eugenol (Alma et, 2007), eugenol memiliki aktivitas biologis sebagai antiinflamasi dan antioksidan. Cara eugenol mengurangi peradangan adalah dengan mencegah sintesis neutrofil dan prostaglandin. Karena eugenol dapat mencegah pengiriman impuls saraf, eugenol dapat sangat membantu dalam menurunkan ketidak nyamanan (Barkin, 2015). Sebagai reaksi pertahanan alami

terhadap kerusakan jaringan yang disebabkan oleh trauma fisik, bahan kimia berbahaya, atau agen mikrobiologis, terjadi peradangan. Kulit berfungsi sebagai penghalang pertama tubuh yang memisahkannya dari lingkungan eksternal karena merupakan organ terluar. Menurut Al-Reza dkk. (2009), kulit berfungsi sebagai garis pertahanan pertama tubuh terhadap mikroorganisme patogen penyebab trauma luka.

Minyak atsiri bunga cengkeh telah dikembangkan sebagai formulasi dalam bentuk sediaan tipe O/W. Temuan penelitian ini menunjukkan bahwa 2,5% merupakan konsentrasi ideal untuk krim tipe O/W (Haque, 2015). Enhancer ditambahkan untuk melanjutkan pengembangan formulasi pada tahap berikutnya. Menurut penelitian sebelumnya, 70% krim tipe O/W adalah asam oleat tiga puluh persen propilen glikol.

Enhancer adalah bahan kimia tambahan yang mempunyai kapasitas untuk meningkatkan laju masuknya zat aktif ke dalam kulit (Songkro, 2009). Bahan peningkat penetrasi dapat memindahkan obat dari bentuk sediaan ke dalam rongga kulit tanpa menimbulkan efek terapeutik (Kumar dan Priyanka, 2015). Jenis

enhancer yang digunakan dalam penelitian ini adalah enhancer propilen glikol dan asam oleat. Propilen glikol bekerja dengan meningkatkan penetrasi zat ke dalam membran kulit, sedangkan asam oleat bekerja dengan meningkatkan penetrasi penyerapan perkutan karena kemampuannya mengubah fluiditas lipid di stratum korneum, sehingga dapat meningkatkan permeabilitas lapisan kulit stratum korneum. (Darijanto et al., 2004).

Ada tiga jenis uji toksisitas: akut, subkronis, dan kronis. Uji praklinis yang disebut uji toksisitas mencari efek berbahaya suatu senyawa yang muncul dalam jangka waktu tertentu setelah dosis tunggal. Mungkin pengujian dilakukan satu kali atau beberapa kali.

Berdasarkan penjelasan tersebut sehingga perlu dilakukan penelitian uji toksisitas terhadap formulasi krim MABC dengan konsentrasi 2,5% tipe O/W, dengan penambahan *enhancer* yang optimal yaitu mengandung *enhancer asam oleat* 50% *propilen glikol* 50%. Uji toksisitas yang dilakukan yaitu toksisitas akut untuk mengetahui toksisitas setelah pemberian tunggal sediaan krim tipe O/W setelah pemberian krim MABC tipe O/W setelah 24 jam dan 14 hari setelah pemberian sediaan ujia. Hasil penelitian ini diharapkan bahwa

krim MABC tipe O/W tidak toksik sebagai sediaan topikal yang aman untuk digunakan.

METODE PENELITIAN

1. Alat dan Bahan

Tujuan dari penelitian eksperimental ini adalah untuk mengetahui apakah penambahan bahan enhancer pada krim minyak atsiri bunga cengkeh tipe O/W akan meningkatkan atau menurunkan toksisitasnya. *Oleic Acid* (AO) dan *Propylene Glycol* (PG) merupakan bahan yang digunakan untuk pembuatan krim jenis O/W, bahan sesuai dengan mutu farmasi (cetaceum, cera alba, paraffin cair, sodium tetrabentoate, white petroleum jelly, nipagin, nipasol, Na lauryl sulfate, dan aquades).

2. Pembuatan Krim

Peleburan adalah proses yang digunakan untuk membuat krim MABC tipe O/W. Pertama, stearil alkohol dalam bentuk padatnya dicairkan pada suhu 75°C. Mortir hangat diisi dengan bahan-bahan larut (vaseline putih, nipasol, stearil alkohol, Na Lauryl sulfate, dan asam oleat) dan diaduk hingga semuanya tercampur rata. Selain itu, hingga tercampur sempurna, komponen yang larut dalam air seperti nipagin, air suling, dan propilen glikol digabungkan.

Setelah itu kedua campuran diaduk sampai homogen dan dingin. Terakhir ditambahkan MABC ke dalam campuran dan diaduk hingga homogen (Haque, 2015).

3. Pengujian Uji Toksisitas

Uji toksisitas dilakukan dengan hewan percobaan tikus Balb/c. penggunaan hewan uji dalam penelitian ini telah mendapatkan persetujuan etik oleh komite etik universitas Ahmad Dahlan. Dua puluh tikus menjalani masa adaptasi sebelum perlakuan, di mana mereka ditempatkan di kandang dan diberi makanan konvensional selama seminggu penuh. Pengujian Untuk mengamati efek toksisitas tertunda dari pengolesan krim tipe O/W, hewan uji dibagi menjadi dua kelompok, masing-masing kelompok terdiri dari sepuluh hewan uji yang dipilih secara acak: lima tikus untuk periode pengamatan 24 jam dan lima tikus untuk periode pengamatan 14 hari. Perlakuan terhadap hewan uji adalah diolesi dengan krim tipe O/W. Sehari sebelum perlakuan punggung hewan uji dicukur. Pada saat perlakuan krim dioleskan sebanyak 100 mg per mencit dengan luas 1 cm² dari total luas permukaan. Pengamatan dilakukan setelah 24 jam dan 14 hari (Sugihartini dkk, 2016).

Tabel I. Pembagian kelompok dan perlakuan

Kelompok	Jumlah hewan uji	Pemberian	Dosis	Waktu
I	10 ekor	Krim tipe O/W	100mg/mencit	24 jam dan 14 hari
II	10 ekor	Kontrol Positif	100mg/mencit	24 jam dan 14 hari

Hewan percobaan dibunuh dengan metode dislokasi cervical hewan coba yang mendapat terapi pengolesan krim MBAC tipe O/W setelah 24 jam 14 hari. Hati dan ginjal diangkat melalui pembedahan setelah itu. Untuk menentukan perbandingan berat organ, organ hati dan ginjal ditimbang setelah dibersihkan dengan NaCl 0,9% dengan rumus perhitungan sebagai berikut: $(\text{berat organ (gram)}/\text{berat badan hewan uji saat dikorbankan (gram)}) \times 100\%$. Selanjutnya untuk mempersiapkan organ untuk pemeriksaan histopatologi, hati dan ginjal dimasukkan ke dalam wadah yang berisi larutan pengawet larutan formalin 10% perlakuan dilakukan Di Laboratorium Patologi Anatomi RS AMC Yogyakarta (Sugihartini et al. 2016).

Membaca Preparat Hispatologi Pada perbesaran 100x, preparat hati dan ginjal dilihat dalam lima bidang pandang: empat sudut dan tengah. Sedangkan target yang dibaca untuk organ ginjal adalah perubahan struktur histologis tubulus kontortus proksimal ginjal tikus karena sel epitel

tubulus sensitif terhadap anoksik dan mudah teracuni oleh zat yang dikeluarkan melalui ginjal.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Universitas Islam Indonesia (UII), Center of Essential Oil Studies (CEOS) Sleman Yogyakarta, melakukan penyulingan terhadap minyak cengkeh yang digunakan. Minyak cengkeh yang diperoleh dilakukan uji teknik Kromatografi Gas (GC) untuk mengetahui karakteristik kandungan kimianya sebelum digunakan Gandjar dan Rohman (2007), teknik ini memiliki tingkat sensitivitas kualitatif dan kuantitatif yang tinggi, dapat menganalisis campuran dalam jumlah kecil, dan dapat menghasilkan data tentang komposisi dan identitas bahan kimia organik yang dikandungnya (Prabawati , 2015). Pembuatan krim krim minyak atsiri bunga cengkeh tipe O/W dibuat dengan melebur bahan bahan yang tahan dengan pemanasan dengan tujuan mempermudah dalam pencampuran pembuatan krim.

Hewan uji diberi krim minyak atsiri bunga cengkeh tipe O/W, dan pengamatan pemberiannya dilakukan selama dua minggu dan puluh empat jam. Pengamatan dilakukan 14 hari dan 24 jam setelah pemberian formulasi krim uji. Untuk dampak langsung jangka waktu pengamatannya adalah 24 jam, dan untuk dampak tertundanya adalah 14 hari. Pada tabel menampilkan temuan rasio berat organ hewan uji 24 jam setelah pemberian sediaan uji, serta data rasio berat organ hewan uji 14 hari setelah pemberian sediaan uji. Hati dan ginjal, yang merupakan organ yang menjadi sasaran efek toksik dari

sediaan uji, merupakan organ yang diperiksa; organ-organ ini dipilih karena memiliki peran fisiologis yang penting dalam tubuh (Fajri, 2016). Sementara ginjal bertanggung jawab untuk mengeluarkan produk limbah dan kelebihan garam, menjaga keasaman darah dan keseimbangan basa, mengendalikan konsentrasi garam darah, dan mengatur keseimbangan air, hati adalah tempat lemak, karbohidrat, protein, dan xenobiotik diproses secara metabolik (Anderson, 1996).

Tabel II. Hasil Rasio Hati dan Ginjal Setelah 24 Jam Pemberian Krim Minyak Atsiri Bunga Cengkeh Krim Tipe O/W

NO	Nama Organ	Kontrol Positif (Rata-rata±SD)	Krim Tipe O/W (Rata-rata±SD)
1	Hati	8,86±0,98	6,01±0,06
2	Ginjal	1,90±0,11	1,91±0,06

Tabel III. Hasil Rasio organ Hati dan organ Ginjal Hari Ke-14 Pemberian Krim Minyak Atsiri Bunga Cengkeh Tipe O/W

NO	Nama Organ	Kontrol Positif (Rata-rata±SD)	Krim Tipe O/W (Rata-rata±SD)
1	Hati	8,94±0,98	8,13±0,85
2	Ginjal	1,79±0,06	0,84±0,16

Tabel IV. Hasil Uji T-Test Rasio Berat Organ Hati Setelah Pemberian Krim Tipe Tipe O/W

No	Organ	Analisis Signifikansi	Keterangan
1	Hati	0,105>0,05	Tidak berbeda bermakna
2	Ginjal	0,095>0,05	Tidak berbeda bermakna

Tabel V. Hasil Pengamatan Makroskopis Organ Semua Hewan Uji Masa Pengamatan 1x24 Jam dan 14 Hari

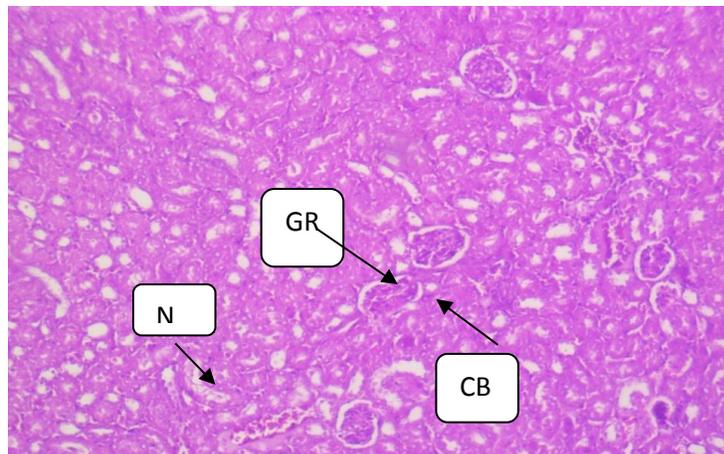
No	Organ	Hasil Pengaman Makroskopis	Kondisi Normal	Kesimpulan
1	Hati	Berwarna merah tua	Berwarna merah tua	Sama dengan kontrol normal
2	Ginjal	Bentuk agak lonjong seperti biji kacang, berwarna merah	Bentuk agak lonjong seperti biji kacang, berwarna merah	Sama dengan kontrol normal

Tabel VI. Hasil pengamatan Histopatologi Setelah 24 Jam Setelah Pemberian Krim MABC O/W dan Kontrol Positif

Kelompok	Nomor hewan	Hasil Pemeriksaan Hispatologi	
		Organ Hati	Organ Ginjal
kontrol positif	1	-	-
	2	-	-
	3	-	-
	4	-	-
	5	-	-
Krim Tipe O/W	1	-	-
	2	-	-
	3	-	-
	4	-	-
	5	-	-

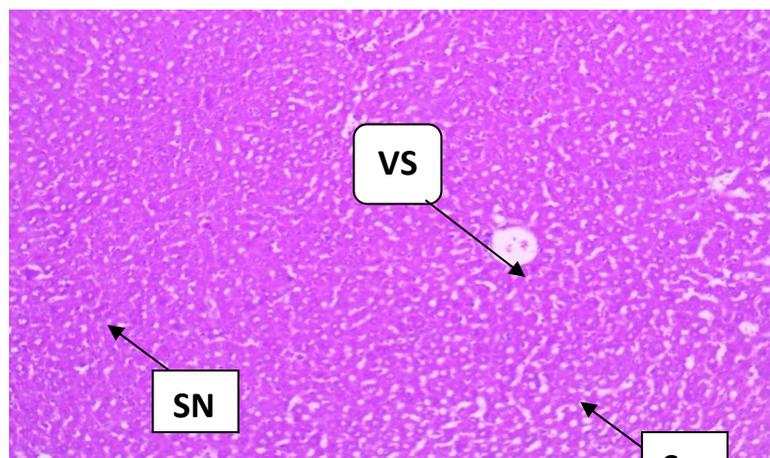
Tabel VII. Hasil pengamatan Histopatologi Setelah 14 Hari Setelah Pemberian Krim MABC Tipe O/W dan Kontol Positif

Kelompok	Nomor hewan	Hasil Pemeriksaan Hispatologi	
		Organ Hati	Organ Ginjal
kontrol positif	1	-	-
	2	-	-
	3	-	-
	4	-	-
	5	-	-
Krim Tipe O/W	1	-	-
	2	-	-
	3	-	-
	4	-	-
	5	-	-



Gambar 1. Gambaran histopatologi ginjal normal, dengan perbesaran 100x, dengan pewarnaan *hematoxylin-eosin*.

Keterangan: GR = Glomerulus, CB = Capsula bowman, N = Sel Normal.



Gambar 12. Gambaran histopatologi organ hati Normal dengan pewarnaan *hematoxylin-eosin*.

Ket:, S = Sinusoid, VS = Vena sentralis, SN = Sel Normal

Analisis histopatologi hati dan ginjal setelah pemberian krim minyak atsiri bunga cengkeh krim tipe O/W dengan penambahan enhancer selama 24 jam 14 hari tidak menunjukkan adanya perubahan pada kelompok manapun. Temuan ini dapat dijelaskan dengan dimasukkannya bahan peningkat dalam jenis sediaan krim. O/W tidak mengubah gambaran histologis hati

atau ginjal setelah krim diberikan selama 24 jam atau 14 hari. Untuk mencegah minyak atsiri yang berlebihan memasuki arteri darah dan mengubah tampilan histologis hati dan ginjal tikus Balb/c, minyak atsiri hanya menembus dermis yang sesuai (Sugihartini et al, 2016). Dalam hal ini dapat dikatakan bahwa setelah pemberian krim MABC yang mengandung asam oleat

dan propilen glikol krim O/W, tidak ada satu pun hewan yang mengalami kerusakan pada hati atau ginjalnya. Sehingga sediaan krim tipe O/W dapat digunakan dengan aman.

KESIMPULAN

Uji toksisitasnya menunjukkan bahwa krim tipe O/W MABC dengan penambahan *enhancer* (*asam oleat* dan *propilenglikol*) tidak menyebabkan toksisitas pada hati dan ginjal mencit, sehingga krim tersebut aman digunakan dalam pengujian toksisitas akut, tetapi perlu pengujian lebih lanjut untuk studi jangka panjang.

DAFTAR PUSTAKA

Alma, M.H.,M.Ertas, S. Nitz,H.Kollmannsberger, 2007, Chemical Composition and Content of Essential Oli From The Bud of Cultivated Turkish Clove (*Syzygium aromaticum, L*), *J. Bio Resources*, 2(2), pp 265-269

Al-Reza, S. M. Yoon J.i, Kim J.,Kang S., 2009. Anti-inflammatory activity of seed essential oil from the Bud of cultivated Turkish Clove (*Syzygium aromaticum, L.*), *J. Bio Resources*, 2(2), pp. 265-269

Barkin, R.L. 2015. Topical nonsteroid anti-inflammatory drug: the importance of drug, delivery, and therapeutic outcome. *Amer. J. Ther.*, 22(5):388-407.

Darijanto ST, Iwo Maria I, Soraya Heni. 2004, uji pengaruh asam oleat

terhadap stabilitas dan difusi prednisolon dari sediaan gel secara in vitro serta uji efek antiradang secara invivo. *Acta Pharmaceutica Indonesia*, Vol.XXIX,No.2; 59-71

Gandjar, I.G., Rohman, A., 2007, *Kimia Farmasi Analisis*, 378-437, Pustaka Pelajar, Yogyakarta.

Haque, A.F., 2016, Daya Antiinflamasi Minyak Atsiri Bunga Cengkeh (*Syzygium aromaticum*) dalam Sediaan Krim Tipe M/A dalam Berbagai Variasi Dosis, *Tesis*, Program Pasca Sarjana Universitas Ahmad Dahlan, Yogyakarta.

Fajri.A.M, 2017, Efek Formula Krim Ekstrak Teh Hijau (*Camellia Sinensis*) Terhadap Gambaran Histopatologik Organ Hati Dan Ginjal Mencit Balb-C. *Skripsi*. Fakultas Farmasi Universitas Ahmad Dahlan, Yogyakarta.

Kumar, P., Priyanka, 2015, Cellular Permeation Pathways: Current focus of Permeation Enhancers for Effective Drug Delivery, *BAOJ Pharmaceutical Sciences*, 1 (1) : 1-13.

Nurdjanah,N., 2004. Diversifikasi tanaman cengkeh, *J.Prespektif*, 3(2), hal 61-70

Prabawati, C.A., 2015, Evaluasi Daya Penetrasi Etil P-Metoksisinamat Hasil Isolasi dari Rimpang Kencur (*Kaempferia galanga L*) pada Sediaan Salep, Krim dan Gel, *Skripsi*, Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Program Studi Farmasi, Univesitas Islam Negeri Hidayatullah, Jakarta.

- Pranawati, E; Sugihartini, N; Yuwono, T., 2016., Sifat Fisik dan Daya Iritasi Krim Tipe A/M Minyak Atsiri Bunga Cengkeh (*Syzygium aromaticum*) dengan Berbagai Variasi Konsentrasi., *JIF*. Vol 12, No 1
- Pearce, Evelyn, 2008, *Anatomi dan Fisiologi untuk Paramedis*. Penerjemahan Handoyo, Sri, Jakarta : PT. Gramedia
- Pratiwi, L; Rahman M.S.; Hidayati., 2016, Ekstraksi Minyak Atsiri Bunga Cengkeh dengan Pelarut Etanol dan Heksana., ISSN 2407-9189
- Sugihartini, N., 2013, Optimasi Komposisi *Enhancer* dan Emulgator pada Formulasi Krim Fraksi Etil Asestat Ekstrak Teh Hijau (*Camellia sinensis*, L) sebagai Sediaan Topikal Anti Inflamasi, *Disertasi*, Program Pascasarjana Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.
- Sugihartini., Yuwono T., Sofia V., 2015, Optimasi Formulasi Minyak Atsiri Bunga Cengkeh (*Syzygium aromaticum L*) sebagai Sediaan Herbal Terstandar Antiinflamasi, *Laporan Penelitian Hibah Tim Pascasarjana*, Fakultas Farmasi, Universitas Ahmad Dahlan, Yogyakarta
- Sugihartini., Fajri M . 2016, gambaran Histopatologi Organ Hati dan Ginjal Mencit Balb/c setelah Pemberian Krim Ekstrak Teh Hijau (*Camellia sinensis L.*). *Jurnal Farmasi dan Ilmu Kefarmasian Indonesia*, vol 3.No 1
- Sugihartini, N; Saridewi, R; Ramdhani, U; Rahmawanti, F; Yuliani, S; Sophia V. 2017. Daya AntiInflamasi Krim Kombinasi Ekstrak Teh Hijau dan Vitamin C sebagai Antioksidan pada Mencit Jantan Galur Balb/C yang Diinduksi Croton Oil. *Jurnal Majalah Obat Tradisional (MOT)* Vol. 22(2), p 73-79.
- Yuliasuti, D., 2016, Optimasi Komposisi *Enhancer* Asam Oleat Dan Propilen Glikol Pada Sediaan Krim Minyak atsiri Bunga Cengkeh (*Syzygium aromaticum*) Tipe M/A dengan Metode *Simplex Lattice Design*, *Tesis*, Program Pasca Sarjana Universitas Ahmad Dahlan, Yogyakarta.