

**UJI TOKSISITAS AKUT GRANUL INSTAN EKSTRAK BROKOLI
DAN HERBA PEGAGAN PADA MENCIT PUTIH BETINA**

**ACUTE TOXICITY TEST OF INSTANT GRANULES MADE FROM
BROCCOLI EXTRACT AND PEGAGAN HERB IN FEMALE WHITE
MICE**

**Erni Rustiani^{1*}, Nina Herlina¹, Vina Nisrina Nur Azmi¹, Lisna Anisa
Fitriana²**

¹Universitas Pakuan, Bogor

²Universitas Pendidikan Indonesia, Bandung

*Email Korespondensi: ernirustiani@unpak.ac.id

ABSTRACT

Broccoli and Centella asiatica (pegagan) contain flavonoids that act as antioxidants. A combination of broccoli extract and Centella asiatica herb has been developed into an instant granule formulation as an antidementia agent; however, the toxicological aspects of this combination have not yet been established. Therefore, an acute toxicity study is required to identify potential hazards, evaluate toxic effects, and determine the safety of the consumed substance. This study aimed to determine the LD₅₀ range and observe toxicity symptoms of instant granules containing broccoli extract and Centella asiatica herb. The study employed an acute toxicity test using 25 female DDY strain mice, which were divided into five groups. The treatment groups received instant granules of broccoli extract and Centella asiatica herb at doses of Group I (5 mg/kg body weight), Group II (50 mg/kg body weight), Group III (300 mg/kg body weight), and Group IV (2000 mg/kg body weight), while the negative control group received a 0.5% CMC-Na suspension. The results showed that the instant granules of broccoli extract and Centella asiatica herb had an LD₅₀ value greater than 2000 mg/kg body weight, which is classified as "slightly toxic." The observed toxicity symptoms were mild and not prolonged. All experimental animals exhibited an increase in body weight during the observation period, with no statistically significant differences ($p > 0.05$) among the groups. Macroscopic examination of internal organs at the end of the study revealed normal anatomy without significant damage in either the negative control or treatment groups.

Keywords: Acute Toxicity Study, Antidementia Activity, Broccoli Extract, Centella asiatica Herb.

ABSTRAK

Brokoli dan pegagan memiliki kandungan flavonoid sebagai antioksidan. Kombinasi ekstrak brokoli dan herba pegagan dikembangkan menjadi sediaan granul instan sebagai antidemensia, namun hingga kini belum diketahui aspek toksikologi dari kombinasi keduanya, sehingga uji toksisitas akut diperlukan untuk mengetahui potensi bahaya, menilai adanya efek toksik, serta menentukan keamanan dari zat yang dikonsumsi. Penelitian ini bertujuan untuk menentukan kisaran nilai LD₅₀ dan gejala toksisitas granul instan ekstrak brokoli dan herba pegagan. Metode penelitian yang digunakan dalam penelitian menggunakan uji toksisitas akut dengan 25 ekor mencit betina galur DDY dan dikelompokkan menjadi 5 kelompok. Kelompok perlakuan diberikan sediaan

uji granul instan ekstrak brokoli dan herba pegagan K I (5 mg/kgBB), K II (50 mg/kgBB), K III (300 mg/kgBB), dan K IV (2000 mg/kgBB) dan kelompok kontrol negatif diberikan suspensi CMC Na 0,5%. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa granul instan ekstrak brokoli dan herba pegagan memiliki kisaran nilai LD₅₀ >2000 mg/kgBB termasuk "Toksik Ringan". Gejala toksisitas yang terjadi bersifat ringan serta tidak berkepanjangan. Semua hewan uji menunjukkan peningkatan berat badan selama pengamatan tidak terdapat perbedaan nyata sig (>0,05). Gambaran organ-organ dalam hewan uji diakhir penelitian dengan pengamatan makroskopis menunjukkan anatomi normal tanpa ada kerusakan yang signifikan antara kelompok negatif maupun kelompok perlakuan.

Kata Kunci: Uji Toksisitas, Antidemensia, Ekstrak Brokoli, Herba Pegagan

PENDAHULUAN

Brokoli memiliki kandungan karotenoid, flavonoid, vitamin A, C, E, tiamin, riboflavin, betakaroten, brokoli mengandung antioksidan yang mampu menetralkan radikal bebas dalam tubuh. Antioksidan yang terkandung dalam brokoli salah satunya berasal dari vitamin C yang dapat menjaga keutuhan sel-sel tubuh termasuk sel-sel otak dari kehancuran yang dilakukan oleh radikal bebas (Opunsunggu & Siahaan, 2025). Menurut hasil penelitian Profesor Gabriele Nagel dan Profesor Christine von Arnim dari Universitas Ulm, penderita Alzheimer memiliki kadar vitamin C yang rendah dalam plasma. Berdasarkan penelitian tersebut vitamin C dapat mencegah terjadinya demensia (Riviere *et al.*, 1998).

Pegagan (*Centella asiatica*) memiliki kandungan alkaloid, saponin, tanin, flavonoid, triterpenoid saponin, dan glikosida.

Senyawa tanin dan flavonoid pada pegagan berfungsi sebagai antioksidan (Rahayu *et al.*, 2020). Efek farmakologi pegagan sebagai anti pikun, untuk membantu mengatasi stress serta dapat sebagai revitalitas tubuh dan otak yang lelah. Dengan aktivitas terhadap system saraf pusat, sebagai tonik saraf, penguat daya ingat, dan kecerdasan. Suplemen otak dari pegagan diketahui berasal dari kandungan senyawa triterpenoid khususnya *asiatic acid* dan *asiaticoside* (Muchtaromah & Umami, 2016).

Kombinasi ekstrak brokoli dan herba pegagan dikembangkan menjadi sediaan granul instan. Granul instan merupakan sediaan tradisional yang berbentuk butiran bulat maupun agregat beraturan yang disajikan dengan cara diseduh (Sriarumtias & Syamsudin., 2023). Menurut penelitian *University College London* dan *University of Dundee* (2022) menyebutkan bahwa

Erni Rustiani^{1*}, Nina Herlina¹, Vina Nisrina Nur Azmi¹, Lisna Anisa Fitriana²

¹Universitas Pakuan, Bogor

²Universitas Pendidikan Indonesia, Bandung

*Email Korespondensi: ernirustiani@unpak.ac.id

penggunaan obat-obatan *effervescent* dapat menimbulkan risiko kesehatan jangka panjang, hal ini disebabkan karena sediaan tersebut memiliki kandungan natrium yang tinggi, sehingga dapat terjadi penyakit hipertensi, kardiovaskular, dan stroke. Studi tersebut menunjukkan adanya perbedaan pada pasien yang diberi resep obat non-*effervescent* dengan pasien yang menggunakan resep obat *effervescent* dengan hasil terjadinya peningkatan sebesar 16% serangan jantung non-fatal, stroke non-fatal, dan peningkatan risiko penyakit hipertensi sebesar tujuh kali lipat pada pasien tersebut (Rustiani & Hidayat, 2023).

Pada penelitian Sintya (2024) granul instan tersebut telah diuji efektivitasnya sebagai antidiemisia dengan perbandingan ekstrak brokoli dan ekstrak herba pegagan 190mg:190mg memiliki efek antidiemisia lebih tinggi dibandingkan dengan granul instan perbandingan ekstrak brokoli dan ekstrak pegagan 25mg:190mg dengan pemberian dosis 2x atau setara 2 sachet @5gram memiliki antidiemisia yang lebih tinggi dibandingkan dengan pemberian 1x atau setara dengan 1 sachet @5gram bahkan lebih tinggi dari kontrol positif (Sintya, 2024). Sehingga perlu

dilakukan uji toksisitas akut terhadap granul instan ekstrak brokoli dan ekstrak herba pegagan untuk menilai keamanan maupun bahaya dari zat yang dikonsumsi dan mengetahui ada tidaknya efek toksik.

Pengujian toksisitas bertujuan untuk memperkirakan efek yang dapat timbul setelah pemberian suatu zat. Salah satu uji toksisitas yang dapat digunakan untuk menilai tingkat keamanan dari suatu zat yaitu uji toksisitas akut yang merupakan percobaan yang dilakukan dengan memberikan zat kimia yang akan diuji pada hewan coba sebanyak satu kali atau beberapa kali dalam rentang waktu 24 jam (Poernom *et al.*, 2024)

METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini meliputi alat-alat gelas (Pyrex®), gunting bedah, jarum sonde, kandang hewan, lumpang dan alu, perlengkapan pemberian hewan (botol minum hewan Navo), timbangan analitik (And®) dan timbangan digital (*Pocket Scale*®). Bahan yang digunakan dalam penelitian ini meliputi sediaan granul instan dari ekstrak brokoli dan herba pegagan (Hidayat, 2023) Na-CMC 0,5%, NaCl fisiologis 0,9%, pakan mencit dan mencit putih betina galur

Erni Rustiani^{1*}, Nina Herlina¹, Vina Nisrina Nur Azmi¹, Lisna Anisa Fitriana²

¹Universitas Pakuan, Bogor

²Universitas Pendidikan Indonesia, Bandung

*Email Korespondensi: ernirustiani@unpak.ac.id

Deutschland Denken Yoken (DDY) sebanyak 25 ekor dengan bobot 20 – 30 gram berumur 6-8 minggu.

Pengujian Pada Hewan Uji

Hewan uji dikelompokkan menjadi 5 kelompok yang berisikan 5 ekor mencit putih betina pada masing-masing kelompok perlakuan. Dari kelompok tersebut, 1 kelompok sebagai kontrol negatif yang diberikan sediaan suspensi Na-CMC 0,5 sedangkan 4 kelompok diberikan perlakuan dosis yang berbeda.

Pemberian perlakuan pada 25

ekor mencit sesuai dengan panduan toksisitas in vivo pada BPOM dan mendapatkan surat persetujuan dari komisi etik Tim Komisi Etik Hewan, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Pakuan, Bogor. Dimana masing-masing kelompok terdapat 5 ekor hewan coba. Pada uji ini dosis diharapkan menimbulkan efek toksik dan harus diperhatikan dengan baik gejala-gejala ketoksikan, kematian ataupun tidak toksik.

Tabel 1. Pengelompok Hewan Uji

Kelompok	Perlakuan	Jumlah Hewan
Kontrol Negatif	Na CMC 0,5%	5 ekor
Kelompok I	Granul Instan Ekstrak Brokoli dan Herba Pegagan Dosis 5 mg/kgBB	5 ekor
Kelompok II	Granul Instan Ekstrak Brokoli dan Herba Pegagan Dosis 50 mg/kgBB	5 ekor
Kelompok III	Granul Instan Ekstrak Brokoli dan Herba Pegagan Dosis 300 mg/kgBB	5 ekor
Kelompok IV	Granul Instan Ekstrak Brokoli dan Herba Pegagan Dosis 2000 mg/kgBB	5 ekor

Pengamatan Gejala Toksisitas Akut

Hewan uji diamati pada sebelum diberi perlakuan dan setelah diberi perlakuan pada waktu 0, ½, 1, 2, 4 dan 24 jam. Lalu dilanjutkan satu hari sekali dalam kurun

14 hari guna melihat muncul atau tidaknya gejala toksisitas dan dihitung jumlah hewan yang mati

disetiap kelompok setelah pemberian sediaan uji, dan juga dilakukan penimbangan bobot badan setiap hari. Gejala yang diamati pada hewan uji meliputi perubahan perilaku (grooming dan refleks flexion), perubahan pada neuromuscular (straub, refleks pineal, refleks korneal, tremor, dan kejang), dan perubahan pada

Erni Rustiani^{1*}, Nina Herlina¹, Vina Nisrina Nur Azmi¹, Lisna Anisa Fitriana²

¹Universitas Pakuan, Bogor

²Universitas Pendidikan Indonesia, Bandung

*Email Korespondensi: ernirustiani@unpak.ac.id

autonomic (piloereksi, pitosis, lakrimasi, defekasi, urinasi, saliva, dan menggeliat).

Penentuan Kisaran LD50

Pedoman pengujian uji toksisitas praklinik secara in vivo mengacu pada penetapan tingkat bahaya berdasarkan GHS (*Global*

Harmonized Classification System for Chemical Substances and Mixtures).

Hasil uji toksisitas akut dinilai berdasarkan kriteria tersebut (BPOM RI, 2022). Penetapan kategori uji toksisitas akut berdasarkan klasifikasi pada Tabel 2.

Tabel 2. Kriteria Penggolongan Sediaan Uji (BPOM RI, 2020)

Tingkat Toksisitas	LD50	Klasifikasi
1	< 1 mg/kg	Super toksik
2	5-50 mg/kg	Sangat toksik
3	>50-500 mg/kg	Toksik
4	>500-2000 mg/kg	Toksik sedang
5	>2000-5000 mg/kg	Toksik ringan
6	>5000 mg/kg	Tidak toksik

Tabel 3. Kriteria Penggolongan Sediaan Uji (OECD, 2001)

Dosis (mg/kgBB)	Kematian	Kategori
5	≥ 2 dari 5 ekor mati	1
5	≥1 ekor menunjukkan gejala toksisitas dan tidak ada kematian	2
50	≥ 2 dari 5 ekor mati	
50	≥1 ekor dengan gejala toksisitas dan tidak ada kematian	3
300	≥ 2 dari 5 ekor mati	
300	≥1 ekor dengan gejala toksisitas dan atau	4
2000	≥ 2 dari 5 ekor mati	
2000	≥1 ekor dengan gejala toksisitas dan atau tidak ada kematian	5
	Tidak ada gejala toksisitas	5/ <i>unclassified</i>

Penetapan nilai kisaran LD50 berdasarkan pedoman OECD (*Organisation for Economic Co-operation and Development*) yang menyebabkan kematian 50% hewan uji. Jika tidak ada kematian pada hewan uji pada seluruh perlakuan, maka dosis tertinggi yang diuji dinyatakan sebagai nilai LD50 semu atau dengan kata lain LD50 lebih besar dari dosis tertinggi yang diberikan.

Pengamatan Bobot Organ

Setelah pengamatan gejala toksisitas selama 14 hari kemudian hewan uji dilakukan pembedahan untuk pengambilan organ jantung, hati, usus, lambung, dan ginjal. Setelah itu, organ tersebut dibersihkan dengan mencuci menggunakan NaCl fisiologis 0,9% kemudian dipisahkan dari jaringan lain yang masih melekat, lalu dikeringkan terlebih dahulu

Erni Rustiani^{1*}, Nina Herlina¹, Vina Nisrina Nur Azmi¹, Lisna Anisa Fitriana²

¹Universitas Pakuan, Bogor

²Universitas Pendidikan Indonesia, Bandung

*Email Korespondensi: ernirustiani@unpak.ac.id

menggunakan *tissue*. Setelah itu, masing-masing organ ditimbang dan diamati secara makroskopik yang dilihat terhadap perubahan warna, bentuk, dan ukurannya.

Analisis Data

Analisis data dilakukan dengan menggunakan RAL (Rancangan Acak Lengkap) analisis data secara statistik menggunakan program SPSS (*Statistical Product and Service Solitions*) dengan uji normalitas (*One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test*) merupakan syarat awal dalam pemilihan cara analisis statistik untuk mengetahui data terdistribusi normal atau tidak normal. Apabila data terdistribusi tidak normal maka dilanjutkan dengan uji

nonparametrik yaitu uji Kruskal-Wallis dan apabila data terdistribusi normal maka dilanjutkan dengan uji parametrik yaitu uji ANOVA.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pengamatan Gejala Toksisitas Akut

Tujuan pengamatan gejala toksisitas akut untuk mengetahui potensi efek toksik suatu senyawa dalam jangka waktu singkat setelah pemberian perlakuan dosis tertentu. Metode *Fixed Dose* dipilih karena menggunakan jumlah hewan uji lebih sedikit dibandingkan metode konvensional lainnya, serta lebih mudah diterapkan dengan jumlah dosis uji yang terbatas, waktu pelaksanaan lebih singkat, dan efisien.

Tabel 4. Hasil Pengamatan Gejala Toksisitas Pada Kelompok Kontrol Negatif

Pengamatan	Jam ke-0	Jam ke-1/2	Jam ke-1	Jam ke-2	Jam ke-4	Jam ke-24
Grooming	(-)	(N)	(-)	(-)	(-)	(-)
Refleks flexion	(N)	(N)	(N)	(N)	(N)	(N)
Straub	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
Refleks pineal	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
Refleks korneal	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
Tremor	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
Kejang	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
Piloereksi	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
Pitosi	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
Lakrimasi	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
Defekasi	(N)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
Urinasi	(-)	(-)	(-)	(N)	(-)	(-)
Saliva	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)

Keterangan: (+) = terjadi ; (-) = tidak terjadi ; (N) = Normal

Tabel 5. Hasil Pengamatan Gejala Toksisitas Pada Kelompok Dosis 5 mg/kgBB

Pengamatan	Jam ke-0	Jam ke-1/2	Jam ke-1	Jam ke-2	Jam ke-4	Jam ke-24
Grooming	(-)	(N)	(-)	(N)	(-)	(-)
Refleks flexion	(N)	(N)	(N)	(N)	(N)	(N)
Straub	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)

Erni Rustiani^{1*}, Nina Herlina¹, Vina Nisrina Nur Azmi¹, Lisna Anisa Fitriana²

¹Universitas Pakuan, Bogor

²Universitas Pendidikan Indonesia, Bandung

*Email Korespondensi: ernirustiani@unpak.ac.id

Refleks pineal	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
Refleks korneal	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
Tremor	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
Kejang	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
Piloereksi	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
Pitosis	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
Lakrimasi	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
Defekasi	(-)	(-)	(N)	(-)	(-)	(-)
Urinasi	(-)	(-)	(N)	(-)	(-)	(-)
Saliva	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)

Keterangan: (+) = terjadi ; (-) = tidak terjadi ; (N) = Normal

Tabel 6. Hasil Pengamatan Gejala Toksisitas Pada Kelompok Dosis 50 mg/kgBB

Pengamatan	Jam ke- 0	Jam ke- ½	Jam ke- 1	Jam ke- 2	Jam ke- 4	Jam ke- 24
Grooming	(-)	(N)	(N)	(-)	(-)	(-)
Refleks flexion	(N)	(N)	(N)	(N)	(N)	(N)
Straub	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
Refleks pineal	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
Refleks korneal	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
Tremor	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
Kejang	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
Piloereksi	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
Pitosis	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
Lakrimasi	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
Defekasi	(N)	(-)	(-)	(-)	(N)	(-)
Urinasi	(-)	(-)	(+)	(+)	(-)	(-)
Saliva	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)

Keterangan: (+) = terjadi ; (-) = tidak terjadi ; (N) = Normal

Tabel 7. Hasil Pengamatan Gejala Toksisitas Pada Kelompok Dosis 300 mg/kgBB

Pengamatan	Jam ke- 0	Jam ke- ½	Jam ke- 1	Jam ke- 2	Jam ke- 4	Jam ke- 24
Grooming	(N)	(N)	(N)	(N)	(N)	(N)
Refleks flexion	(N)	(N)	(N)	(N)	(N)	(N)
Straub	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
Refleks pineal	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
Refleks korneal	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
Tremor	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
Kejang	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
Piloereksi	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
Pitosis	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
Lakrimasi	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
Defekasi	(-)	(N)	(-)	(-)	(-)	(-)
Urinasi	(-)	(-)	(+)	(+)	(-)	(-)
Saliva	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)

Keterangan: (+) = terjadi ; (-) = tidak terjadi ; (N) = Normal

Tabel 8. Hasil Pengamatan Gejala Toksisitas Pada Kelompok Dosis 2000 mg/kgBB

Pengamatan	Jam ke- 0	Jam ke- ½	Jam ke- 1	Jam ke- 2	Jam ke- 4	Jam ke- 24
Grooming	(N)	(N)	(N)	(N)	(N)	(N)
Refleks flexion	(N)	(N)	(N)	(N)	(N)	(N)
Straub	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
Refleks pineal	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)

Erni Rustiani^{1*}, Nina Herlina¹, Vina Nisrina Nur Azmi¹, Lisna Anisa Fitriana²

¹Universitas Pakuan, Bogor

²Universitas Pendidikan Indonesia, Bandung

*Email Korespondensi: ernirustiani@unpak.ac.id

Refleks korneal	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
Tremor	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
Kejang	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
Piloereksi	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)	(-)
Pitosi	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
Lakrimasi	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
Defekasi	(-)	(+)	(-)	(+)	(+)	(-)
Urinasi	(-)	(+)	(+)	(+)	(-)	(-)
Saliva	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)

Keterangan: (+) = terjadi ; (-) = tidak terjadi ; (N) = Normal

Pengamatan gejala toksisitas yang diamati setelah pemberian sediaan uji berdasarkan pada Tabel 4, 5, 6, 7 dan 8 adalah grooming, refleks flexion, straub, refleks pineal, refleks korneal, tremor, kejang, piloereksi, pitosis, lakrimasi, defekasi, urinasi, dan saliva. Pada kelompok dosis 2000 mg/kgBB menimbulkan gejala piloereksi yang dilihat dari bulunya yang tampak berdiri atau kusut seperti mengeriting, hal ini bisa terjadi karena akibat kontraksi otot pilomotor dipangkal folikel rambut (McPheters, 2024). Menurut Yadav *et al.*, (2019) kandungan brokoli tidak bekerja pada jalur yang menimbulkan piloereksi karena brokoli bersifat antiinflamasi, antioksidan, dan neuroprotektif. Dan menurut (Prakash *et al.*, 2017) kandungan pegagan tidak menimbulkan piloereksi karena pegagan bersifat antiinflamasi, antioksidan, dan neuroprotektif yang tidak menimbulkan mekanisme pada piloereksi.

Pengamatan gejala defekasi

terjadi jika hewan uji menimbulkan pengeluaran feses yang tidak normal disebut dengan diare yang ditandai oleh bentuk feses yang cair atau lembek. Defekasi bisa terjadi karena adanya feses dalam Selanjutnya dilakukan pengamatan terhadap gejala urinasi. Pada tabel 6, 7, dan 8 menunjukkan bahwa hewan uji yang diberikan dosis 50, 300, dan 2000 mg/kgBB terjadi pengeluaran warna urin terlihat lebih kuning dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif yang menunjukkan urin berwarna kuning jernih. Peningkatan pengeluaran urin menyebabkan mencit lebih sering berkemih diarea kandang sehingga sekam dalam kandang menjadi cepat basah.

Pada hasil yang didapat gejala toksik yang timbul pada masing - masing kelompok hewan uji cukup berbeda. Gejala yang terjadi pada mencit betina merupakan salah satu gejala yang wajar karena pada setiap hewan uji memiliki kondisi fisiologis yang berbeda seperti berat badan dan proses metabolisme tubuh selama pengamatan berlangsung.

Erni Rustiani^{1*}, Nina Herlina¹, Vina Nisrina Nur Azmi¹, Lisna Anisa Fitriana²

¹Universitas Pakuan, Bogor

²Universitas Pendidikan Indonesia, Bandung

*Email Korespondensi: ernirustiani@unpak.ac.id

Maka hal tersebut dapat mempengaruhi parameter-parameter yang diamati selama penelitian. Tetapi tidak ada hewan uji yang mengalami kesakitan dan derita akibat setelah diberikan granul instan ekstrak brokoli dan ekstrak herba pegagan selama pengamatan 14 hari, hal tersebut dilihat dari mencit betina yang ditandai dengan peningkatan berat badan hewan uji

tersebut.

Hasil Uji Toksisitas Akut

Pengujian toksisitas akut berfungsi sebagai awal yang dilakukan untuk mendeteksi efek toksik yang muncul dalam waktu singkat setelah pemberian sediaan uji secara oral, umumnya dalam jangka waktu 24 jam. Hasil pengamatan organ dalam mencit dapat dilihat pada Tabel 9.

Tabel 9. Hasil Pengamatan Organ Dalam

Gambar Anatomi			Keterangan	Hasil
			1. Jantung: Didalam rongga dada, warna merah, bentuk bulat dengan ujung meruncing.	Organ dalam normal
			2. Hati: Warna merah tua kecoklatan, struktur permukaan halus, bentuk cembung keatas keatas menghadap diafragma dan cekung dibagian bawah.	
300 mg/kgBB	2000 mg/kgBB		3. Lambung: Warna merah muda sedikit transparan, bentuk fundus dan mengerucut.	
			4. Ginjal: Warna merah kecoklatan, bentuk sedikit memanjang dibagian medial yang cekung seperti biji kacang ijo.	
			5. Usus: Usus halus warna merah pucat, bentuk panjang berkelok-kelok. Usus besar warna putih keabu-abuan, bentuk pendek diameter besar.	

Berdasarkan hasil pada Tabel 10 dapat dilihat bagian organ dalam mencit seperti jantung, hati, lambung, ginjal, dan usus. Brokoli memiliki kandungan glukosinolat merupakan metabolit aktif, kandungan sulforapan akan mengalami metabolisme oleh enzim mirosinase serta mikrobiota dalam

usus menjadi senyawa metabolit aktif. Metabolit tersebut dapat diserap kedalam sirkulasi sistemik dan terdistribusi pada organ termasuk jantung, hati, lambung, ginjal, dan usus, pada organ jantung kandungan sulforapan dapat mengaktifasi jalur pertahanan antioksidan endogen seperti *nuclear*

Erni Rustiani^{1*}, Nina Herlina¹, Vina Nisrina Nur Azmi¹, Lisna Anisa Fitriana²

¹Universitas Pakuan, Bogor

²Universitas Pendidikan Indonesia, Bandung

*Email Korespondensi: ernirustiani@unpak.ac.id

factor erythroid 2-related factor (Nrf2) sehingga berpotensi menurunkan stress oksidatif pada jaringan miokard. Menurut Wang *et al.*, (2022) kandungan glukosinolat sulforapan dari brokoli memiliki efek kardioprotektif membantu mencegah kerusakan jantung dan stress oksidatif melalui mekanisme antioksidan. Pada organ hati metabolit glukosinolat menunjukkan aktivitas hepatoprotektif melalui penekanan respon inflamasi dan peningkatan sistem antioksidan. Pada saluran pencernaan khususnya lambung dan usus, kandungan glukosinolat dimetabolisme menjadi indole 3-*carbinol* yang berperan dalam modulasi mikrobiota usus serta perlindungan mukosa gastrointestinal. Sementara itu, pada organ ginjal proses ekskresi metabolit *isothiocyanate*, sulforapan dimetabolit pada organ ginjal sebelum kemudian dieliminasi.

Selanjutnya pegagan memiliki kandungan senyawa triterpenoid antara lain *asiaticoside* dan *asiatic acid*, serta senyawa flavonoid dan fenolik. Senyawa tersebut dapat diserap dan dimetabolisme sehingga terdistribusi secara sistemik pada organ termasuk organ jantung, hati, lambung, usus dan ginjal. Pada organ jantung dan hati menunjukkan aktivitas kardioprotektif dan

hepatoprotektif melalui mekanisme antioksidan dan penghambatan jalur pro-inflamasi, namun menurut (Gray *et al.*, 2018) pemberian dalam dosis tinggi maupun penggunaan dalam jangka panjang dapat menimbulkan hepatotoksik, tetapi *asiaticoside* dalam herba pegagan meningkatkan kadar enzim hati serta memicu perubahan histopatologi pada hepatosit, meskipun memiliki efek hepatoprotektif, *asiaticoside* tetap memiliki resiko hepatotoksitas jika digunakan pada dosis tinggi. Selanjutnya pada saluran cerna khususnya lambung dan usus senyawa fenolik dari pegagan dapat memodulasi mikrobiota usus serta perlindungan mukosa gastrointestinal. Pada organ ginjal kandungan *asiaticoside* memiliki efek nefroprotektif menurunkan stress oksidatif.

Pada dosis 2000 mg/kgBB hewan uji mengalami diare yang ditandai dengan feses cair atau lembek. Kandungan brokoli beberapa jenis *isothiocyanate* seperti *allyl-isothiocyanate* (AITC) mampu menimbulkan iritasi pada mukosa saluran cerna, memengaruhi motilitas gastrointestinal, serta menyebabkan penebalan mukosa lambung dengan dosis tinggi. AITC dan sebagian metabolit glukosinolat memiliki potensi menimbulkan iritasi

Erni Rustiani^{1*}, Nina Herlina¹, Vina Nisrina Nur Azmi¹, Lisna Anisa Fitriana²

¹Universitas Pakuan, Bogor

²Universitas Pendidikan Indonesia, Bandung

*Email Korespondensi: ernirustiani@unpak.ac.id

atau gastrotoksisitas jika dikonsumsi dalam dosis tinggi. Menurut Sabir *et al.*, (2022) penelitian *in vitro* menunjukkan bahwa ekstrak brokoli dengan kadar glukosinolat yang tinggi mampu mempengaruhi struktur microbiota usus, termasuk dapat meningkatkan populasi bakteri yang bersifat menguntungkan (probiotik) serta menurunkan jumlah bakteri yang bisa merugikan, sehingga berperan dalam menjaga keseimbangan mikroba disaluran pencernaan.

Pada penelitian Tania *et al.*, (2022) dalam bentuk ekstrak brokoli dengan sediaan oral dosis 100 – 500 mg/kgBB/hari selama beberapa minggu, brokoli menunjukkan keamanan yang baik. Perubahan fisiologis atau metabolik yang teramati, seperti aktivitas jalur detoksifikasi dan modulasi microbiota usus, menunjukkan

aktivitas baik dari senyawa bioaktif brokoli yang ditandai dengan tidak adanya perubahan berat badan maupun kelainan hispatologi pada organ utama mencit, bukan efek toksik sehingga mendukung penggunaannya relatif aman. Sedangkan penelitian Yadav *et al.* (2019) mengatakan bahwa pemberian ekstrak herba pegagan pada dosis 200 – 2000 mg/kgBB tidak menimbulkan mortalitas atau perubahan hispatologi organ hati, jantung, ginjal dan otak menunjukkan bahwa pegagan bersifat aman pada dosis yang diuji.

Bobot Badan Hewan Uji

Pemeriksaan bobot badan pada hewan uji merupakan indikator paling sensitif dalam menunjukkan kondisi hewan uji pada pengujian toksisitas akut ini. Rata-rata bobot badan mencit dari setiap kelompok dapat dilihat pada Tabel 10.

Tabel 10. Rata-rata Bobot Badan Selama 14 Hari

Hari ke	Rata-rata bobot badan (g) ± SD					Rata-rata
	Kontrol	P1	P2	P3	P4	
1	27,20 ± 1,483	27,60 ± 1,673	29,20 ± 1,789	30,20 ± 1,304	32,00 ± 1,871	29,24 ± 2,332 ^a
2	27,20 ± 1,483	28,60 ± 2,074	29,20 ± 1,789	30,20 ± 1,304	32,00 ± 1,871	29,44 ± 2,274 ^a
3	27,20 ± 1,483	28,20 ± 2,280	29,20 ± 1,789	30,60 ± 1,817	32,20 ± 2,168	29,48 ± 2,519 ^a
4	27,20 ± 1,483	28,20 ± 2,280	29,20 ± 1,789	30,60 ± 2,074	31,80 ± 2,490	29,40 ± 2,517 ^{ab}
5	27,20 ± 1,483	28,40 ± 2,074	29,20 ± 1,789	30,60 ± 2,074	31,80 ± 2,490	29,44 ± 2,468 ^{ab}
6	29,20 ± 3,564	29,60 ± 2,302	29,60 ± 1,817	30,80 ± 2,168	31,80 ± 2,168	30,20 ± 2,466 ^{bc}
7	29,40 ± 3,507	29,60 ± 2,302	29,60 ± 1,817	30,80 ± 2,168	32,00 ± 2,121	30,28 ± 2,458 ^{bc}
8	31,00 ± 3,391	29,20 ± 1,483	30,00 ± 1,581	31,00 ± 1,871	32,20 ± 2,168	30,68 ± 2,268 ^{bc}
9	31,00 ± 3,391	29,60 ± 2,302	30,00 ± 1,581	31,20 ± 1,924	32,20 ± 2,168	30,80 ± 2,345 ^{bc}
10	31,20 ± 3,194	29,60 ± 2,302	30,00 ± 1,581	31,60 ± 2,074	32,40 ± 2,881	30,96 ± 2,491 ^c
11	31,00 ± 3,391	29,60 ± 2,191	30,20 ± 2,049	31,60 ± 2,074	32,40 ± 2,881	30,96 ± 2,557 ^c
12	31,00 ± 3,391	30,20 ± 1,789	30,60 ± 1,517	31,60 ± 2,074	32,60 ± 2,881	31,20 ± 2,380 ^c
13	31,00 ± 3,391	30,20 ± 1,789	30,60 ± 1,517	31,60 ± 2,074	32,60 ± 2,881	31,20 ± 2,380 ^c
14	31,00 ± 3,391	30,20 ± 1,789	30,60 ± 1,517	31,60 ± 2,074	32,60 ± 2,881	31,20 ± 2,380 ^c

Erni Rustiani^{1*}, Nina Herlina¹, Vina Nisrina Nur Azmi¹, Lisna Anisa Fitriana²

¹Universitas Pakuan, Bogor

²Universitas Pendidikan Indonesia, Bandung

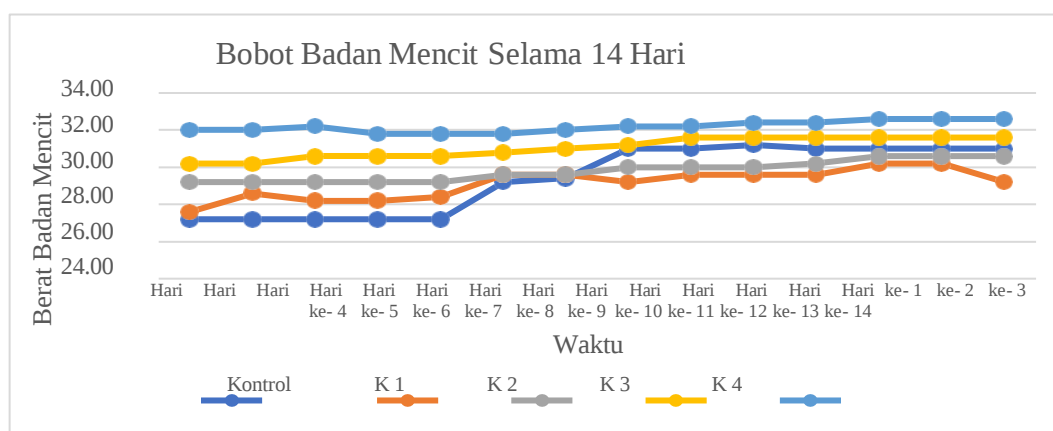
*Email Korespondensi: ernirustiani@unpak.ac.id

X	29,64 ± 3,306 ^a	29,20 ± 2,033 ^a	29,80 ± 1,638 ^{ab}	31,00 ± 1,834 ^{bc}	32,19 ± 2,228 ^c
----------	----------------------------	----------------------------	-----------------------------	-----------------------------	----------------------------

Keterangan: Hasil rata-rata yang diikuti huruf superskrip berbeda (a,b,c) pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan yang signifikan secara statistic antar kelompok perlakuan.

Pada Tabel 11 menunjukkan adanya peningkatan bobot badan secara bertahap, hal tersebut dapat terjadi karena nafsu makan tidak terganggu dan fungsi organ pencernaan normal. Akibatnya, hewan uji tetap makan normal atau

bahkan lebih banyak. Kenaikan berat badan pada hewan uji menandakan bahwa tidak adanya toksisitas yang signifikan. Berat badan ditetapkan oleh keseimbangan antara masuknya kalori dan keluarnya energi dari tubuh.



Gambar 1. Diagram Rata-Rata Bobot Badan Mencit 14 Hari

Pada Gambar 1 diagram tersebut menunjukkan adanya peningkatan bobot badan pada mencit betina selama kurun waktu 14 hari yang menunjukkan bahwa kesehatan hewan uji dalam keadaan baik. Pada umumnya, munculnya efek toksik pada hewan uji dapat ditandai dengan penurunan berat badan, yang terjadi akibat berkurangnya nafsu makan, timbulnya gangguan kesehatan, serta munculnya anda- tanda gejala toksisitas tertentu. Hasil ini

menentukan bahwa pemberian sediaan granul instan ekstrak brokoli dan herba pegagan tidak menimbulkan efek toksik yang memengaruhi berat badan atau pertumbuhan hewan uji.

Penentuan *Lethal Dose* (LD50)

Penentuan nilai *lethal dose* (LD50) digunakan untuk mengetahui tingkat toksisitas akut sediaan uji serta menjadi dasar dalam evaluasi keamanan sebelum dilakukan pengujian toksisitas lanjutan. Uji toksisitas akut granul instan ekstrak

Erni Rustiani^{1*}, Nina Herlina¹, Vina Nisrina Nur Azmi¹, Lisna Anisa Fitriana²

¹Universitas Pakuan, Bogor

²Universitas Pendidikan Indonesia, Bandung

*Email Korespondensi: ernirustiani@unpak.ac.id

brokoli dan herba pegagan memiliki kisaran nilai LD50 granul instan ekstrak brokoli dan ekstrak herba pegagan yaitu >2000 mg/kgBB yang termasuk dalam kategori GHS nomor 5/*unclassified*. Dengan pernyataan bahwa senyawa tersebut tergolong memiliki toksisitas ringan dan kemungkinan tidak berbahaya jika dikonsumsi. Hasil pengujian uji toksisitas akut diperkuat dengan tidak adanya kematian pada hewan uji yang diberikan dosis sebesar 2000 mg/kgBB, serta tidak ditemukan perubahan secara signifikan pada organ-organ internal

hewan uji.

Bobot Organ Hewan Uji

Pada penelitian ini pembedahan dilakukan pada hari ke- 15 untuk mengambil organ-organ hewan uji seperti jantung, hati, usus, lambung, dan ginjal, lalu dilakukan penimbangan bobot organ pada hari terakhir penelitian bertujuan untuk mengetahui timbulnya pengaruh dari pemberian sediaan granul instan ekstrak brokoli dan ekstrak herba pegagan terhadap organ dalam mencit betina. Data rata-rata bobot organ mencit dapat dilihat pada Tabel 11.

Tabel 11. Data Rata-Rata Organ Mencit

Rata-Rata Bobot Organ (g) ± SD						
Perlakuan	Jantung	Hati	Usus	Lambung	Ginjal Kiri	Ginjal Kanan
Kontrol	0,17 ± 0,019	1,16 ± 0,055	2,90 ± 0,343	0,62 ± 0,148	0,19 ± 0,018	0,20 ± 0,022
5 mg/kgBB	0,17 ± 0,019	1,18 ± 0,045	2,88 ± 0,514	0,47 ± 0,128	0,19 ± 0,036	0,19 ± 0,026
50 mg/kgBB	0,16 ± 0,026	1,20 ± 0,071	2,84 ± 0,193	0,68 ± 0,099	0,20 ± 0,037	0,22 ± 0,036
300 mg/kgBB	0,15 ± 0,029	1,22 ± 0,130	2,79 ± 0,817	0,71 ± 0,293	0,20 ± 0,052	0,20 ± 0,038
2000 mg/kgBB	0,18 ± 0,039	1,18 ± 0,045	3,15 ± 0,625	0,60 ± 0,074	0,20 ± 0,038	0,19 ± 0,034
Rata-Rata	0,17 ± 0,027	1,19 ± 0,073	2,91 ± 0,513	0,61 ± 0,173	0,19 ± 0,035	0,20 ± 0,031

Pada umumnya, hasil ini menunjukkan bahwa perlakuan yang diberikan dengan dosis 5, 50, 300, dan 2000 mg/kgBB tidak berpengaruh terhadap bobot organ yang diamati, dan bobot organ yang diperoleh pun tetap berada pada kisaran normal relatif terhadap kelompok kontrol. Menurut National

Toxicology Program (2014) berat organ mencit yang normal yaitu berat organ jantung berkisar 0,14 – 0,16 gram, berat organ hati berkisar 1 – 1,6 gram, berat organ usus berkisar 2,2 – 2,4 gram, berat organ lambung berkisar 0,5 – 0,7 gram, berat organ ginjal dengan total kedua ginjal sebesar 0,32 gram.

Erni Rustiani^{1*}, Nina Herlina¹, Vina Nisrina Nur Azmi¹, Lisna Anisa Fitriana²

¹Universitas Pakuan, Bogor

²Universitas Pendidikan Indonesia, Bandung

*Email Korespondensi: ernirustiani@unpak.ac.id

Pada hasil penelitian uji toksisitas akut granul instan ekstrak brokoli dan herba pegagan dengan dosis 5, 50, 300, dan 2000 mg/kgBB termasuk kedalam kategori "toksik ringan" (BPOM RI, 2020) dan kategori GHS nomor 5/*unclassified* dengan kisaran nilai LD₅₀ >2000 mg/kgBB. Dengan demikian, selama kurun waktu 14 hari dengan dosis 5, 50, 300, dan 2000 mg/kgBB menunjukkan tidak adanya kematian pada hewan uji maupun tanda toksisitas berat pada seluruh perlakuan, maka dosis tertinggi yang diuji dinyatakan dan dapat dijadikan dasar penentuan dosis pada penelitian selanjutnya. Dosis untuk uji lanjutan direkomendasikan sebagai fraksi dari dosis tertinggi tersebut untuk menjamin keamanan hewan uji.

KESIMPULAN

Hasil uji toksisitas akut granul instan ekstrak brokoli dan herba pegagan termasuk kedalam kategori toksik ringan dengan nilai kisaran LD₅₀ >2000 mg/kgBB. Gejala toksisitas yang timbul pada mencit putih betina yaitu piloereksi, defekasi dan urinasi.

DAFTAR PUSTAKA

- BPOM RI. (2020). *Pedoman Uji Toksisitas Praktikum Secara In Vivo*. Badan Pengawas Obat Dan Makanan Republik Indonesia.
- BPOM RI. (2022). *Pedoman Uji Toksisitas Praktikum Secara In Vivo*. Badan Pengawas Obat Dan Makanan Republik Indonesia.
- Gray, N. E., Alcazar Magana, A., Lak, P., Wright, K. M., Quinn, J., Stevens, J. F., Maier, C. S., & Soumyanath, A. (2018). *Centella asiatica*: Phytochemistry and mechanisms of neuroprotection and cognitive enhancement. *Phytochemistry Reviews*, 17(1), 161–194.
- McPheters, J. (2024). Effect of broccoli glucosinolate metabolites on gut microbiota composition in vitro. *Journal of Functional Foods*, 102(3), 112–123.
- Muchtaromah, B., & Umami, L. R. (2016). Efek Farmakologi Pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urban) sebagai Suplemen Pemacu Daya Ingat. *Prosiding Seminar Nasional from Basic Science to Comprehensive Education. Makassar, Indonesia: Universitas Islam Negeri Alauddin Makassar.*, 262–266.
- Opunsunggu, H. E. S., & Siahaan, H. P. (2025). Aktivitas Antioksidan Brokoli (*Brassica oleracea*) pada Beberapa Durasi Perebusan dengan Metode DPPH (1,1-diphenil-2-picrylhydrazil). *Jurnal Ners*, 9(2), 1416–1421.
- Poernom, A., Sari, D. P., & Wibowo, R. T. (2024). Uji Toksisitas Akut sebagai Parameter Keamanan Awal Suatu Zat Aktif pada Hewan Coba. *Jurnal Farmasi Dan Ilmu Kefarmasian Indonesia*, 11(1), 45–53.

Erni Rustiani^{1*}, Nina Herlina¹, Vina Nisrina Nur Azmi¹, Lisna Anisa Fitriana²

¹Universitas Pakuan, Bogor

²Universitas Pendidikan Indonesia, Bandung

*Email Korespondensi: ernirustiani@unpak.ac.id

- Prakash, V., Jaiswal, N., & Srivastava, M. (2017). A review on medicinal properties of *Centella asiatica*. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*, 10(10), 69–74.
- Rahayu, T., Komang, N., Permana, I. D. G. M., & Puspawati, K. . (2020). Pengaruh Waktu Maserasi Terhadap Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Pegagan (*Centella Asiatica* (L.) Urban). *Jurnal Ilmu Dan Teknologi Pangan (ITEPA)*, 482. *Jurnal Ilmu Dan Teknologi Pangan (ITEPA)*, 9(4), 482.
- Rustiani, E., & Hidayat, N. (2023). Pengembangan Granul Instan Herbal Kombinasi Ekstrak Brokoli dan Herba Pegagan Dengan Variasi Jenis Pemanis. *Prosiding Seminar Nasional Sains Dan Terapan.*, 1(1), 56–65.
- Sabir, Z., Zhang., Y., & Jiang, C. (2022). *Effects of Polyphenols and Glucosinolates in Broccoli Extract on Human Gut Microorganisms Based on Simulation In Vitro*. 27(49).
- Sintya, A. R. (2024). Formulasi dan Evaluasi Granul Instan Kombinasi Ekstrak Herba Pegagan (*Centella asiatica*) dan Brokoli (*Brassica oleracea*) sebagai Sediaan Fungsional. *Jurnal Farmasi Dan Ilmu Kefarmasian Indonesia*, 11(1), 45–54.
- Sriarumtias, R. A. M. R., & Syamsudin. (2023). Penetapan Kadar Vitamin C dan Formulasi Sediaan Granul Instan Ekstrak Kulit Jeruk Kepok (*Citrus reticulate Blanco.*). *Jurnal Penelitian Farmasi Dan Herbal*, 5(2), 42–47.
- Tania, N., Rahmawati, D., & Prasetyo, A. (2022). Aktivitas antioksidan dan uji toksisitas akut ekstrak brokoli (*Brassica oleracea* L.) pada mencit. *Jurnal Farmasi Indonesia*, 19(2), 123–130.
- Wang, H., Yang, G., Tian, Y., Li, J., Meng, L., Jiang, X., & Xin, Y. (2022). Sulforaphane inhibits angiotensin II-induced cardiomyocyte apoptosis by acetylation modification of Nrf2. *Aging (Albany NY)*, 14(16), 6740–6755.
- Yadav, S. K., Gupta, R. K., Kumar, A., & Singh, A. (2019). Pharmacological and therapeutic potential of *Centella asiatica*: A review. *Journal of Ethnopharmacology*, 238.