

Efek Toksisitas Sub Akut Fraksinasi Air Ekstrak Etanol Daun Bandotan (*Ageratum Conyzoides* (L.) L.) Terhadap Beberapa Parameter Darah Mencit Putih Jantan

Helmi Arifin^{1*}, Sri Oktavia², Satrina Chania²

¹Fakultas Farmasi, Universitas Andalas Padang

²Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi (STIFARM) Padang

*E-mail: helmiunand@yahoo.co.id

Abstrak

Uji toksisitas adalah pengujian terhadap efek toksik suatu senyawa pada makhluk hidup dan sistem biologi lainnya. Telah dilakukan pengujian mengenai toksisitas sub akut dari fraksi daun bandotan (*Ageratum conyzoides* (L.) L.) menggunakan hewan percobaan mencit putih jantan. Hewan percobaan terdiri dari 36 ekor yang dibagi menjadi 4 kelompok yaitu kontrol negatif, fraksi air daun bandotan dengan dosis 12,5 mg/kg BB, 25 mg/kg BB dan 50 mg/kg BB yang diberikan secara oral selama 21 hari. Parameter yang diamati pada uji toksisitas sub akut ini yaitu jumlah eritrosit, leukosit, trombosit dan nilai hematokrit menggunakan alat *Hematology analyzer*, efek toksisitas sub akut diuji pada hari ke-7, -14 dan -21. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian dosis fraksi ekstrak etanol daun bandotan dapat mempengaruhi jumlah eritrosit dan trombosit ($p < 0,05$). Dan lama pemberian fraksi ekstrak etanol daun bandotan dapat meningkatkan jumlah leukosit ($p < 0,05$). Dapat disimpulkan bahwa variasi dosis fraksi ekstrak etanol daun bandotan tidak memiliki efek toksik sub akut terhadap parameter hematologi darah, kecuali pada parameter leukosit.

Kata kunci : Toksisitas subakut; Fraksi air; Daun bandotan; Hematologi

Abstract

Toxicity test is a test for toxicity effect of a sub stance from organism and other biologic system. Study about sub acute toxicity from bandotan leaves fraction has been done, using experimentation animal which is male white mice. It consist of 36 mice devided into 4 groups which; 5 negative control, water fraction of bandotan leaves with 12,5 mg/kg BW, 25 mg/kg BW and 50 mg/kg BW dose that given orally in 21 days. Parameter to obseve was eritrocyte, leukocyte, platelet and hematocryte value using analyzer hematology, sub acute toxicity effect was tested at the days 7, 14, 21. The result shows that dose of quantity of eritrocyte and platelet ($p < 0.05$) was influenced by giving dose of etanol extract fraction bandotan leaves the duration can increase quantity of leukocyte ($p < 0.05$). It can conclude that variation of dose extract etanol fraction bandotan leaves does'nt have sub acute toxicity effect on blood hematology parameter except laukocyte parameter.

Keywords : Toxic subacute; Aqueous fraction; *Ageratum conyzoides* (L.); Hematology

PENDAHULUAN

Indonesia kaya akan sumber bahan obat alam dan tradisional yang secara turun temurun telah digunakan sebagai ramuan obat tradisional. Pengobatan tradisional dengan tanaman obat diharapkan dapat dimanfaatkan dalam pembangunan kesehatan masyarakat. Kemajuan pengetahuan dan teknologi modern tidak mampu menggeser peranan obat tradisional, bahkan pada saat ini pemerintah tengah menggalakkan

pengobatan kembali ke alam (*back to nature*) (Katno, 2008). Obat tradisional adalah bahan atau ramuan bahan yang berupa bahan tumbuhan, bahan hewan, bahan mineral, sediaan sarian (galenik) atau campuran dari bahan tersebut yang secara turun-menurun telah digunakan untuk pengobatan berdasarkan pengalaman (Tjaya & Rahardja, 2008).

Salah satu tanaman obat yang banyak digunakan adalah *Ageratum conyzoides*. Di Indonesia, *Ageratum conyzoides* L. (bandotan) merupakan

tumbuhan liar dan lebih dikenal sebagai tumbuhan pengganggu (gulma) di kebun dan di ladang, bagian yang digunakan untuk obat adalah herba (bagian di atas tanah) dan akar (Hyne, 1987). Berdasarkan penelusuran literatur, beberapa penelitian tentang daun bandotan telah dilakukan salah satunya adalah herba bandotan berkhasiat sebagai antibakteri (Sugara, *et al.*, 2016), menurunkan kadar total kolesterol darah (Supriadi, *et al.*, 2014), menyembuhkan luka pada diabetes melitus (Afrianti, *et al.*, 2016).

Untuk pengembangan obat tradisional menjadi fitofarmaka, diperlukan beberapa tahapan pengujian keamanan dan khasiat secara praklinis dan klinis (Badan Pengawasan Obat dan Makanan Republik Indonesia, 2005). Pengujian keamanan yang harus dilakukan meliputi uji toksisitas akut, toksisitas sub akut, toksisitas sub kronik dan toksisitas kronik (Loomis, 1978). Uji toksisitas perlu dilakukan pada suatu produk obat yang akan dipasarkan. Uji awal (*screening test*) ini sangat penting secara farmakologi dan toksikologi karena akan digunakan untuk pertimbangan penentuan dosis, dan rentang waktu pemberian (Sasmito, *et al.*, 2015).

Tahap pengujian praklinis yang harus dilalui oleh suatu tanaman yang akan dijadikan obat yaitu pengujian efektifitas dan pengujian toksisitas (Departemen kesehatan Republik Indonesia, 1986). Uji toksisitas adalah pengujian terhadap efek toksik suatu senyawa pada makhluk hidup dan sistem biologi lainnya. Pengujian ini terkait dengan hubungan antara efek toksik dengan tingkatan, durasi dan frekuensi paparan pada makhluk hidup (Lu, 2002). Tujuan dari pengujian toksisitas adalah mengembangkan keamanan dari zat kimia yang digunakan untuk obat, makanan, pestisida maupun industri kimia lainnya. Untuk mengetahui keamanan dan toksisitas obat dapat dilakukan serangkaian uji toksisitas (Lu, 1995).

Darah merupakan komponen esensial makhluk hidup. Secara fisiologis darah berfungsi sebagai pembawa oksigen. Sel-sel darah terdiri dari eritrosit (sel darah merah), leukosit (sel darah putih) yang terdiri dari beberapa jenis, dan trombosit (platelet) (Kiswari, 2014).

Berdasarkan penelitian yang dilakukan sebelumnya oleh (Kusnadi, *et al.*, 2016) menjelaskan tentang uji toksisitas ekstrak tumbuhan (*Ageratum conyzoides* (L.) L.) terhadap pertumbuhan dan fisiologis darah mencit, hasil dari penelitian tersebut menunjukkan bahwa pemberian ekstrak daun dan akar *Ageratum conyzoides* (L.) L.) tidak mengganggu berat badan, jumlah sel darah merah, jumlah sel darah putih, hemoglobin dan berat organ (hati dan ginjal). Maka peneliti tertarik untuk meneliti lebih lanjut tentang efek toksisitas dari hasil fraksi ekstrak etanol daun bandotan terhadap beberapa parameter darah pada mencit putih jantan. Dimana parameter yang diamati meliputi jumlah sel darah merah, jumlah sel darah putih, nilai hematokrit dan nilai trombosit.

METODE PENELITIAN

Alat

Alat-alat yang akan digunakan pada penelitian ini adalah botol reagen gelap, timbangan hewan (Ohaus[®]), sonde mencit, timbangan analitik (Ohaus[®]), rotary evaporator (Ika[®]), blender (Philips[®]), aluminium foil, corong (Iwaki[®]), gelas ukur (Iwaki[®]), krus porselen, spuit (Terumo[®]), waterbath (Mettler[®]), corong pisah (Iwaki[®]), plat KLT *Silica* gel GF₂₅₄ (Merck), moisture bellance (Ohaus[®]), krus silikat, kertas saring, erlenmeyer (Iwaki[®]), spektrofotometer UV-Vis UVmini-1240 (Shimadzu[®]), lampu UV (Camag[®]), beaker glass (Pyrex[®]), plat tetes (Iwaki[®]), pipa kapiler, auto hematology analyzer (exigo).

Bahan

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah daun bandotan (*Ageratum conyzoides* L.), Etanol 96% (PT Bratachem), Etanol 70% (PT Bratachem), *n*-Hexan (PT Bratachem), Etil Asetat (PT Bratachem), Aqua DM (PT Bratachem), Na CMC (*Natrium Carboxy Mhetyl Celulosa*) (Merck), pakan ternak ayam (PELLET HI-PRO-VITE 511) (PT Pokphand), asam nitrat (Merck), ferri klorida (FeCl₃) (Merck).

CARA KERJA

A. Pengambilan Sampel

Sampel yang digunakan adalah daun bandotan (*Ageratum conyzoides* (L.) L.) segar sebanyak 4 kg yang didapatkan dari daerah desa Ujung Ladang, Kecamatan Gunung Kerinci, Kabupaten Kerinci, Kota Sungai Penuh, Provinsi Jambi. Tanaman diambil dengan cara dicabut sampai akar menggunakan tangan.

B. Identifikasi Tanaman

Identifikasi tanaman dilakukan di Herbarium Universitas Andalas (ANDA) Jurusan Biologi Fakultas MIPA Universitas Andalas Padang.

C. Pembuatan Ekstrak Etanol Daun Bandotan

Pembuatan ekstrak dilakukan dari serbuk kering simplisia dengan cara maserasi menggunakan pelarut etanol 70 %. Masukkan 400 g serbuk kering simplisia ke dalam botol gelap, tambahkan 4000 mL pelarut. Rendam selama 6 jam pertama sambil sekali-sekali diaduk, kemudian diamkan selama 18 jam. Lalu disaring sehingga didapatkan maserat pertama. Ulangi proses penyarian sekurang-kurangnya dua kali dengan jenis dan jumlah pelarut yang sama. Kumpulkan semua maserat, kemudian uapkan dengan penguap putar sehingga diperoleh ekstrak kental. Hitung rendemen yang diperoleh yaitu persentase bobot (b/b) antara rendemen dengan bobot serbuk simplisia

dengan penimbangan (Kementerian Kesehatan Republik Indonesia, 2011).

$$\% \text{Rendemen} = \frac{\text{Berat Ekstrak}}{\text{Berat Sampel}} \times 100 \%$$

D. Pembuatan Fraksinasi

Hasil fraksi diperoleh dari ekstrak kental etanol daun bandotan yang difraksinasi secara berturut-turut dengan menggunakan pelarut *n*-heksana, etil asetat dan aquadest. Ekstrak kental etanol daun bandotan diencerkan terlebih dahulu menggunakan aquadest yang telah dipanaskan sebanyak 60 mL aduk sampai homogen dalam corong pisah, tambahkan pelarut *n*-heksan sebanyak 60 mL kocok homogen kemudian didiamkan sampai terlihat batas pisah antara kedua pelarut tersebut, setelah terpisah fraksi *n*-heksan dikeluarkan dari corong pisah. Sisa fraksi aquadest ditambah larutan etil asetat 60 mL, kemudian dikocok homogen dan diamkan sampai terlihat batas pisah antara kedua pelarut kemudian dikeluarkan dari corong pisah.

Fraksinasi dilakukan sebanyak tiga kali pengulangan dengan menggunakan 60 mL pelarut atau perbandingan (1:1) untuk setiap penyarian. Sari pertama, kedua dan ketiga dikumpulkan. Ekstrak hasil fraksinasi dikentalkan dengan menggunakan penguap vakum atau penguap tekanan rendah untuk mendapatkan fraksi kental.

Dosis

Dosis hasil fraksi daun bandotan (*Ageratum conyzoides* (L.)L.) diberikan untuk pengujian pada mencit putih jantan adalah 12,5 mg/kg BB, 25 mg/kg BB, dan 50 mg/kg BB diberikan secara oral dengan pemberian 1 x sehari.

Pengelompokkan Hewan Uji

Sebelum penelitian dilakukan terlebih dahulu hewan percobaan diaklimatisasi selama 7 hari. Hewan percobaan dikelompokkan secara acak menjadi 4 kelompok yang terdiri dari 3 kelompok perlakuan dan 1 kelompok

kontrol negatif. Masing-masing kelompok terdiri dari 9 ekor mencit, dimana 3 ekor tiap kelompoknya untuk pengamatan hari ke-7, ke-14 dan ke-21. Kelompok kontrol negatif hanya diberi larutan pensuspensi Na CMC 0,5 %. Pada kelompok I, II dan III adalah kelompok mencit yang diberi fraksi air ekstrak etanol daun bandotan secara oral dengan dosis 12,5 mg/kg BB, 25 mg/kg BB, dan 50 mg/kg BB. Pemberian sediaan dilakukan setiap hari selama 21 hari, pada hari ke-7, ke-14 dan ke-21 darah diambil dari hewan percobaan untuk diperiksa eritrosit, leukosit, trombosit dan hematokritnya.

Pengambilan Darah

Darah hewan diambil melalui jantung dengan menggunakan pipet kapiler, lalu dimasukkan kedalam *micro pippete adapter* (MPA) untuk pemeriksaan eritrosit, leukosit, hematokrit dan trombosit.

Uji Toksisitas Sub Akut dari Fraksi Ekstrak Etanol Daun Bandotan Terhadap Beberapa Parameter Darah

Pengujian paramater darah dengan menggunakan metode otomatis "Hematology Analyzer" :

1. Hidupkan alat
2. Isi darah segar kedalam mikropipet
3. Masukkan mikropipet kedalam *micro pippete adapter* (MPA)
4. Masukkan MPA kedalam lubang wadah
5. Set profil sampel yang terdapat pada alat
6. Secara otomatis sampel akan dianalisis.

Analisa Data

Data hasil penelitian dianalisis secara statistik dengan menggunakan

metode analisa varian (*ANOVA*) dua arah dilanjutkan dengan uji lanjut *Duncan* (*Duncan's Multiple F Test*) menggunakan program SPSS.

HASIL DAN PEMBAHASAN

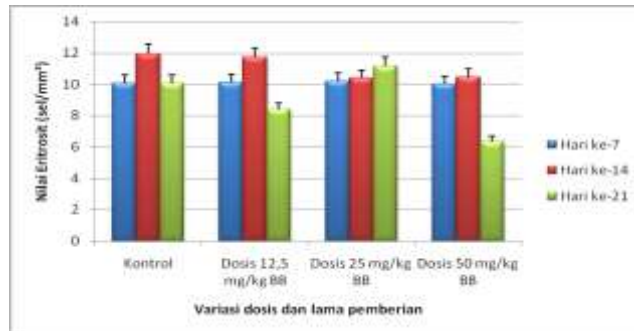
Setelah dilakukan penelitian tentang uji efek toksisitas sub akut hasil fraksinasi ekstrak etanol daun bandotan (*Ageratum conyzoides* (L.) L.) terhadap beberapa parameter darah pada mencit putih jantan, maka didapatkan hasil sebagai berikut: hasil identifikasi tumbuhan yang dilakukan di Herbarium Andalas (ANDA) Jurusan Biologi Fakultas MIPA Universitas Andalas menunjukkan bahwa sampel yang digunakan adalah tumbuhan bandotan dengan spesies (*Ageratum conyzoides* (L.) L.) dari keluarga *compositae*.

Adapun uji skrining fitokimia pada fraksi air ekstrak daun bandotan positif mengandung alkaloid, saponin, fenol, favonoid, fotosterol, tanin dan protein.

Dosis yang digunakan pada penelitian ini yaitu untuk kontrol normal diberi suspensi Na CMC 0,5 %, pada kelompok 2 diberi suspensi daun bandotan dengan dosis 12,5 mg/kg BB, kelompok 3 diberi dosis 25 mg/kg BB dan pada 4 diberi dosis 50 mg/kg BB.

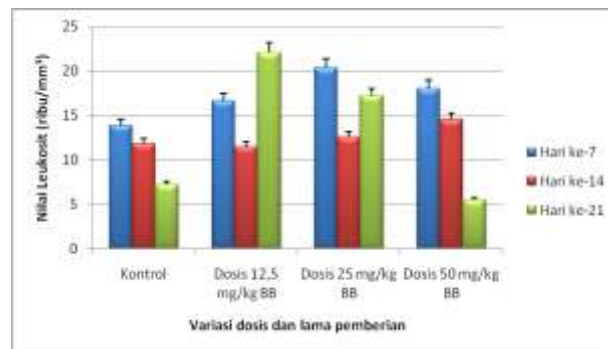
Hasil pemberian fraksi ekstrak etanol daun bandotan (*Ageratum conyzoides* (L.) L.) terhadap beberapa parameter darah dengan menggunakan alat Hematology Analyzer yaitu:

- a) Rata-rata efek toksisitas sub akut hasil fraksinasi daun bandotan (*Ageratum conyzoides* (L.) L.) terhadap jumlah eritrosit pada mencit putih jantan.



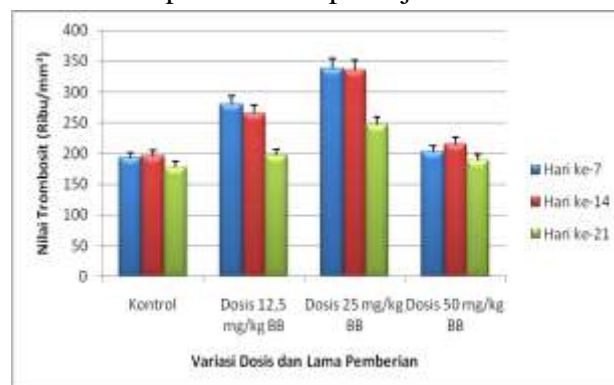
Gambar 4. Diagram batang nilai eritrosit berdasarkan variasi dosis dan lama pemberian fraksi daun bandotan (*Ageratum coyzoides* (L.) L.) terhadap jumlah eritrosit pada mencit putih jantan.

b) rata-rata efek toksisitas sub akut hasil fraksinasi daun bandotan (*Ageratum conyzoides* (L.) L.) terhadap jumlah leukosit pada mencit putih jantan.



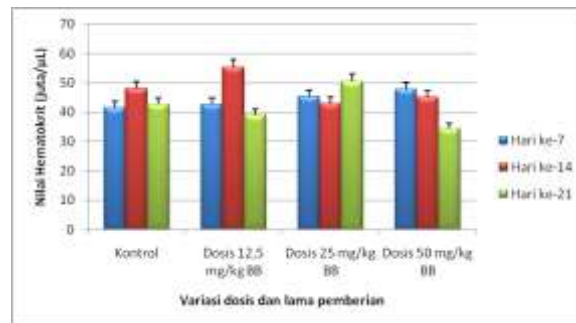
Gambar 5. Diagram batang nilai leukosit berdasarkan variasi dosis dan lama pemberian fraksi daun bandotan (*Ageratum coyzoides* (L.) L.) terhadap jumlah leukosit pada mencit putih jantan.

c) Rata-rata efek toksisitas sub akut hasil fraksinasi daun bandotan (*Ageratum conyzoides* (L.) L.) terhadap jumlah trombosit pada mencit putih jantan.



Gambar 6. Diagram batang nilai trombosit berdasarkan variasi dosis dan lama pemberian fraksi daun bandotan (*Ageratum coyzoides* (L.) L.) terhadap jumlah trombosit pada mencit putih jantan.

- d) Rata-rata efek toksisitas sub akut hasil fraksinasi daun bandotan (*Ageratum conyzoides* (L.) L.) terhadap nilai hematokrit pada mencit putih jantan.



Gambar 7. Diagram batang nilai hematokrit berdasarkan variasi dosis dan lama pemberian fraksi daun bandotan (*Ageratum conyzoides* (L.) L.) terhadap jumlah hematokrit pada mencit putih jantan.

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui kajian efek toksisitas sub akut fraksi ekstrak etanol daun bandotan terhadap beberapa parameter darah pada mencit putih jantan yang diberi sediaan suspensi dari fraksi etanol daun bandotan dengan dosis 12,5 mg/kg BB, 25 mg/kg BB, dan 50 mg/kg BB selama 21 hari.

Ekstraksi daun bandotan (*Ageratum conyzoides* (L.) L.) dilakukan dengan metode maserasi. Pemilihan metode ini karena sampel yang digunakan yaitu berupa daun. Daun segar bandotan ditimbang sebanyak 4,5 kg kemudian disortasi basah untuk memisahkan kotoran atau bahan asing lainnya dari daun bandotan (*Ageratum conyzoides* (L.) L.) sehingga didapatkan 4 kg daun bandotan segar.

Proses maserasi ini dilakukan dengan menggunakan botol kaca gelap dan disimpan pada tempat yang terlindung cahaya. Hal ini bertujuan untuk menghindari terjadinya penguraian struktur zat aktif terutama untuk senyawa yang kurang stabil terhadap cahaya. Selanjutnya sampel dimaserasi menggunakan etanol karena etanol adalah pelarut universal yang dapat melarutkan hampir semua senyawa yang bersifat polar,

semi polar dan non polar. Etanol yang digunakan adalah etanol 70 % karena sampel yang digunakan adalah sampel kering yang memiliki kandungan air relatif sedikit. Adanya kandungan air sebanyak 30 % dari pelarut ini berfungsi untuk membantu memecahkan dinding sel sehingga penetrasi etanol ke dalam sel lebih cepat dan optimal (Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 2000).

Serbuk simplisia daun bandotan (*Ageratum conyzoides* (L.) L.) yang dimaserasi sebanyak 400 gram. Simplisia direndam selama 24 jam dimana 6 jam pertama sesekali diaduk dan diulangi sebanyak 3 kali pengulangan, pengulangan bertujuan untuk meningkatkan efisiensi transfer masa sehingga metabolit dalam media dapat tertarik secara maksimal. Setelah disaring maserat lalu dipisahkan dengan *rotary evaporator* untuk menguapkan pelarut dan air yang masih tersisa sehingga didapatkan ekstrak kental 46,668 g dengan hasil randemen 11,667 %. Hasil randemen yang didapatkan telah memenuhi syarat yang dicantumkan dalam Farmakope Herbal Indonesia (2011) untuk ekstrak kental herba bandotan (*Ageratum conyzoides* (L.) L.) yaitu tidak kurang dari 9,61 %.

Ekstrak kental etanol daun bandotan Selanjutnya difraksinasi untuk mendapatkan senyawa aktif yang bersifat polar, semi polar dan non polar. Tujuan dilakukan fraksinasi adalah untuk memisahkan senyawa-senyawa berdasarkan tingkat kepolarannya. Pada prinsipnya senyawa polar diekstraksi dengan pelarut polar sedangkan senyawa non polar diekstraksi dengan pelarut non polar (Harbone, 1987). Hasil fraksi yang didapatkan yaitu, fraksi kental *n*-heksan 3,4758 g, fraksi kental etil asetat 2,6853 g dan fraksi kental air 9,5591 g. Setelah didapatkan masing-masing hasil fraksinasi maka dilakukan ke hewan percobaan.

Pada hewan percobaan yang digunakan adalah mencit putih jantan sebanyak 36 ekor yang berumur 2-3 bulan dengan berat badan 20-30 gram. Hewan percobaan dibagi menjadi 4 kelompok dimana tiap-tiap kelompok terdiri dari 12 ekor mencit putih jantan. Semua hewan percobaan diaklimatisasi selama 7 hari sebelum perlakuan, tujuannya untuk penyesuaian terhadap kondisi lingkungan. Perlakuan pada mencit dilakukan selama 21 hari, ini bertujuan untuk melihat pengaruh lamanya pemberian terhadap efek yang diberikan. Pengamatan dilakukan pada hari ke-7, 14, dan 21.

Untuk melihat efek toksisitas pada beberapa parameter darah ini digunakan metode otomatis dengan "Hematology analyzer". Pemeriksaan dengan mesin penghitung otomatis ini tidak menghilangkan kesulitan pada pengenceran sampel, cara ini dapat meningkatkan ketelitian dan kecepatan pemeriksaan lebih dari satu sampel (Gandasoebrata, 2010). Sampel untuk pengujian adalah darah yang diambil melalui jantung pada hewan percobaan dengan cara mengambilnya menggunakan mikropipet.

Dari hasil uji statistik ANOVA dua arah, nilai $P < 0,05$, hal ini menunjukkan bahwa faktor lama pemberian, dosis dan interaksi dosis antara lama pemberian dan dosis mempengaruhi jumlah eritrosit pada

mencit putih jantan secara bermakna. Kemudian dilakukan uji lanjut duncan. Dari hasil pemeriksaan uji duncan terhadap lama pemberian, pada hari ke-7, ke-14 dan ke-21 berbeda nyata karena terletak pada subset yang berbeda. Terjadinya penurunan jumlah eritrosit pada pemeriksaan hari ke-21 yaitu 9,0033 juta/ μ L. Erat kaitannya dengan keadaan anemia, namun nilai eritrosit masih berada dalam rentang normal jika dibandingkan dengan jumlah hewan normal pada mencit yaitu 6,50-10,10 juta/ μ L. Kemudian antara variasi dosis fraksi ekstrak etanol daun bandotan terhadap jumlah eritrosit, dosis 50 mg/kg BB berbeda nyata dengan dosis 12,5 mg/kg BB, 25 mg/kg BB dan kontrol normal, sedangkan pada dosis 12,5 mg/kg BB, dosis 25 mg/kg BB dan kontrol normal tidak berbeda nyata karena terletak pada subset yang sama.

Perhitungan statistik yang berkaitan dengan interaksi antara variasi dosis dan lama pemberian dengan nilai 0,001 ($p < 0,05$) menunjukkan perbedaan yang signifikan, hal tersebut dapat dilihat pada diagram batang (Lampiran 1, Gambar 4) rata-rata jumlah eritrosit terhadap variasi dosis dan lama waktu pemberian. Pada pengujian hari ke-14 pada umumnya terjadi peningkatan jumlah eritrosit kecuali pada hari ke-7 dan hari ke-21. Namun pada pengujian hari ke-7 dan pengujian hari ke-21 terjadi penurunan jumlah eritrosit pada kelompok kontrol normal dibandingkan dengan kelompok dosis 12,5 mg/kg BB, kelompok 25 mg/kg BB dan kelompok dosis 50 mg/kg BB yang relatif sama.

Dari hasil uji statistik ANOVA dua arah, nilai $P < 0,05$, hal ini menunjukkan bahwa faktor lama pemberian, dosis dan interaksi dosis antara lama pemberian dan dosis mempengaruhi jumlah leukosit pada mencit putih jantan secara bermakna. Kemudian dilakukan uji lanjut duncan. Dari hasil uji lanjut duncan didapatkan hasil bahwa semakin lama pemberian fraksi ekstrak etanol daun banotan dapat meningkatkan jumlah leukosit yang

mencapai angka 12,983 ribu/mL. Peningkatan jumlah leukosit dapat menyebabkan terjadinya leukositosis yaitu suatu kondisi dimana apabila terjadi peningkatan jumlah leukosit yang tidak terkontrol dapat menyebabkan anemia. Meningkatnya jumlah leukosit pada hari ke-21 berada diluar rentang normal jumlah leukosit pada mencit (2,6 – 10,1 ribu/mL), oleh karena itu dapat disimpulkan bahwa semakin lama pemberian fraksi ekstrak etanol daun bandotan dapat menimbulkan efek toksik dikarenakan terjadinya peningkatan jumlah leukosit diluar rentang normal. Namun peningkatan jumlah leukosit tidak mempengaruhi jumlah eritrosit. Kemudian pada variasi dosis hasil fraksi ekstrak etanol daun bandotan terhadap nilai leukosit, kontrol normal dengan dosis 50 mg/kg BB tidak berbeda nyata karena terletak dengan subset yang sama, tetapi berbeda nyata dengan dosis 25 mg/kg BB dan 12,5 mg/kg BB.

Perhitungan statistik yang berkaitan dengan interaksi antara variasi dosis dan lama pemberian dengan nilai 0,004 ($p < 0,05$) menunjukkan perbedaan yang signifikan, hal tersebut dapat dilihat pada diagram batang (Lampiran 1, Gambar 5) rata-rata jumlah leukosit terhadap variasi dosis dan lama waktu pemberian. Pada pengujian hari ke-7 pada umumnya terjadi peningkatan jumlah eritrosit kecuali pada hari ke-14 dan hari ke-21. Namun pada pengujian hari ke-14 dan pengujian hari ke-21 terjadi penurunan jumlah leukosit.

Dari hasil uji statistik ANOVA dua arah, nilai $P > 0,05$, hal ini menunjukkan bahwa faktor lama pemberian dan interaksi dosis antara lama pemberian dan dosis tidak mempengaruhi jumlah trombosit pada mencit putih jantan secara bermakna, tetapi pada dosis pengukuran berpengaruh secara bermakna, karena nilai $P < 0,05$. Kemudian pada variasi dosis hasil fraksi ekstrak etanol daun bandotan terhadap nilai trombosit, kontrol normal, dosis 50 mg/kg BB dan dosis 12,5 mg/kg BB tidak berbeda nyata karena terletak dengan

subset yang sama, tetapi berbeda nyata dengan dosis 25 mg/kg BB.

Dari hasil uji statistik ANOVA dua arah, nilai $P < 0,05$, hal ini menunjukkan bahwa faktor lama pemberian dan interaksi dosis antara lama pemberian dan dosis mempengaruhi jumlah hematokrit pada mencit putih jantan secara bermakna, tetapi pada dosis pengukuran tidak berpengaruh secara bermakna, karena nilai $P > 0,05$. Kemudian dilakukan uji lanjut duncan. Dari hasil pemeriksaan uji duncan, menunjukkan bahwa nilai hematokrit pada perlakuan hari ke-21 sama dengan hari ke-7, namun berbeda secara statistik dengan hari ke-14. Terjadinya penurunan jumlah hematokrit pada pemeriksaan hari ke-21 yaitu 41,629 juta/ μ L. Erat kaitannya dengan keadaan anemia, namun nilai hematokrit masih berada dalam rentang normal jika dibandingkan dengan jumlah hewan normal pada mencit yaitu 32,8-48,0 juta/ μ L.

Perhitungan statistik yang berkaitan dengan interaksi antara variasi dosis dan lama pemberian dengan nilai 0,000 ($p < 0,05$) menunjukkan perbedaan yang signifikan, hal tersebut dapat dilihat pada diagram batang (Lampiran 1, Gambar 7) rata-rata jumlah hematokrit terhadap variasi dosis dan lama waktu pemberian. Pada pengujian hari ke-14 mayoritas terjadi peningkatan jumlah eritrosit kecuali pada hari ke-7 dan hari ke-21. Namun pada pengujian hari ke-7 dan pengujian hari ke-21 terjadi penurunan jumlah hematokrit.

KESIMPULAN

Dari penelitian yang telah dilaksanakan maka didapatkan kesimpulan bahwa :

- 1) Pemberian fraksi air ekstrak etanol daun bandotan (*Ageratum conyzoides* (L.) L.) secara subakut dengan variasi dosis yang berbeda tidak berpengaruh terhadap beberapa parameter darah, namun lama fraksi ekstrak etanol daun bandotan *Ageratum conyzoides* (L.) L.) dapat

mempengaruhi beberapa parameter darah seperti sel darah merah, sel darah putih dan nilai hematokrit pada mencit putih jantan ($\text{sig} < 0,05$).

- 2) Perbedaan pemberian dosis fraksi air ekstrak etanol daun bandotan (*Ageratum conyzoides* (L.) L.) berpengaruh nyata terhadap parameter darah eritrosit dan trombosit pada mencit putih jantan ($\text{sig} < 0,05$) dan tidak berpengaruh nyata terhadap nilai hematokrit pada mencit putih jantan ($\text{sig} > 0,05$).
- 3) Lama waktu pemberian fraksi air ekstrak etanol daun bandotan (*Ageratum conyzoides* (L.) L.) menyebabkan efek toksik sub akut terhadap jumlah eritrosit.

DAFTAR PUSTAKA

- Afrianti, R., Noviandi, D., Dira & Ulfa Widya. (2016). Pengujian Efektifitas Penyembuhan Luka Mencit Diabetes Melitus yang Diberikan Sediaan Krim Ekstrak Etanol Daun Bandotan. *Scientia*, 6, (1), 50-58.
- Badan Pengawasan Obat dan Makanan Republik Indonesia. (2005). *Kriteria dan Tata Laksana Pendaftaran Obat Tradisional, Obat Herbal Terstandart, dan Fitofarmaka*. Jakarta: Badan Pengawasan Obat dan Makanan Republik Indonesia.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. (1986). *Senarai Tumbuhan Obat*, Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia..
- Heyne, K. (1987). *Tumbuhan berguna Indonesia*. (Jilid II). Jakarta: Badan Litbang Departemen Kehutanan..
- Katno. (2008). *Pengelolaan pasca panen tanaman obat*. Tawangmangu: Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Tanaman Obat dan Obat Tradisional: Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. (2011). *Farmakope Herbal Indonesia*. (Edisi I). Jakarta: Kementerian Kesehatan Indonesia.
- Kiswari, R. (2014). *Hematologi & Transfusi*. Jakarta: Penerbit Erlangga.
- Kusnadi., Fitriani, A., & Hernawati. (2016). Uji toksisitas ekstrak tumbuhan (*Ageratum conyzoides* L.) terhadap pertumbuhan dan fisiologi darah mencit. *BIOSFER, J.Bio. & Pend.Bio*, 1 (1), 1-9.
- Loomis, T.A. (1978). *Toksikologi Dasar*. Penerjemah: Limono, A. Donatus. Yogyakarta: Universitas Gadjah Mada.
- Lu, F. C. (1995). *Toksikologi Dasar: Asas, Organ Sasaran dan Penilaian Resiko* (Edisi II). Penerjemah: E. Nugroho., Z. S. Bustami., & Z. Darmansyah. Jakarta: Universitas Indonesia..
- Lu, F. C. (2002). *Basic Toxicology: Fundamentals, Target Organ and Risk Assesment 4th ed*. London: Taylor & Francis.
- Sasmito, A.W., Wijayanti, D.A., Fitriana, I., Sari, W.P. (2015). Pengujian Toksisitas Akut Obat Herba Pada Mencit Berdasarkan *Organization for Economic Co-operational and Development* (OEVD). *Jurnal Sain Veteriner*, 33 (2), 234-239.
- Sugara, T.H., Irawadi, T.T., Suprpto, I.H., Hanafi, M. (2016). Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi Etil Asetat Daun Tanaman Bandotan (*Ageratum conyzoides* L.) *Jurnal Ilmiah Ibnu Sina*, 1 (1), 88-96.
- Supriyadi, E., Roslizawaty & Zuhrawati. (2014). Pengaruh Pemberian Ekstrak Daun Bandotan (*Ageratum conyzoides* L) Terhadap Kadar Total Kolesterol Darah Ayam Broiler. *Jurnal Medika Veterinaria*, 8 (2), 108-109.
- Tjay, T. H., & Rahardja, K. (2008). *Obat-obat penting*. (Edisi keenam). Jakarta: PT. Elex Media Komputindo.