

## Uji Toksisitas Akut Ekstrak Etanol Daun Sirsak (*Annona muricata* L.) Terhadap Ginjal Mencit

Emil Salim<sup>1\*</sup> , Puteri Nigie Kemala Dewi<sup>2</sup>, Herawaty Ginting<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Departemen Farmakologi dan Klinik/Komunitas Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Sumatera Utara, Medan, 20222, Indonesia

<sup>2</sup>Program Studi Sarjana Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Sumatera Utara, Medan, 20222, Indonesia

<sup>3</sup>Departemen Biologi Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Sumatera Utara, Medan, 20222, Indonesia

\*Corresponding Author: [emilsalim@usu.ac.id](mailto:emilsalim@usu.ac.id)

### ARTICLE INFO

#### Article history:

Received 21 September 2023

Revised 13 October 2023

Accepted 25 December 2023

Available online 27 December 2023

E-ISSN: 2620-3731

P-ISSN: 2615-6199

#### How to cite:

Salim E, Dewi PNK and Ginting H. Uji Toksisitas Akut Ekstrak Etanol Daun Sirsak (*Annona muricata* L.) Terhadap Ginjal Mencit. Indonesian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research. 2023 Dec 27 ;6(2):34-46.

### ABSTRACT

Soursop leaf ethanol extract was reported to have immunomodulatory, antidiabetic, anti-inflammatory, lowering uric acid and cholesterol levels properties. Based on these reports, soursop leaf ethanol extract has the potential to be developed into a standardized herbal medicine. To ensure safety, this extract must undergo toxicity studies before marketing. This study examined soursop leaf ethanol extract acute toxicity. LD<sub>50</sub> was estimated using the Reed and Muench method, and the effect of the extract on the kidneys was observed. This study used 50 mice—25 males and 25 females—divided into 5 groups. The control group received sodium carboxymethyl cellulose (CMC-Na) 0.5% w/v, and the treatment groups received ethanol extract of soursop leaves at doses of 500, 1000, 1500, and 2000 mg/kg bw orally on the first day, then body weight and number of deaths were calculated and the toxic symptoms were observed over 14 days. After 14 days, the surviving mice were sacrificed to examine the relative organ weights, macropathology and histopathology of the mice kidneys. Male and female mice in the 1500 and 2000 mg/kg bw dose groups showed toxic symptoms. There was no significant difference in relative organ weight at 14 days between groups. The results of organ macropathology showed no colour differences in all groups. Based on histopathological examination, mild damage to the kidney organs can be seen at doses of 1500 and 2000 mg/kg bw and the LD<sub>50</sub> result was 1819 mg/kg bw. In conclusion, soursop leaf ethanol extract has a mild toxic effect on mice.

**Keyword:** Acute toxicity, soursop leaves, kidney histopathology, LD<sub>50</sub>

### ABSTRAK

Ekstrak etanol daun sirsak dilaporkan memiliki efek imunomodulator, antidiabetes, antinflamasi, menurunkan kadar asam urat dan kolesterol. Berdasarkan laporan ini, ekstrak etanol daun sirsak memiliki potensi untuk dikembangkan menjadi obat herbal terstandar. Sebelum dipasarkan, perlu dilakukan uji toksisitas untuk mengetahui keamanan ekstrak ini. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui potensi toksisitas ekstrak etanol daun sirsak terhadap ginjal mencit. Metode yang digunakan adalah metode Reed dan Muench, nilai LD<sub>50</sub> dihitung dan diamati pengaruh ekstrak terhadap ginjal. Penelitian ini menggunakan 50 ekor mencit yang terdiri dari 25 ekor jantan dan 25 ekor betina, yang dibagi dalam 5 kelompok. Kelompok kontrol diberi natrium karboksimetil selulosa (CMC-Na) 0,5% b/v dan kelompok perlakuan diberi ekstrak etanol daun sirsak (EEDS) dengan dosis 500, 1000, 1500, 2000 mg/kg bb yang diberikan dalam dosis tunggal secara oral pada hari pertama, selanjutnya dilakukan pengamatan gejala toksik, berat badan dan jumlah kematian selama 14 hari. Setelah 14 hari, mencit yang masih hidup dikorbankan untuk dilakukan pemeriksaan berat organ relatif, makropatologi dan histopatologi ginjal mencit. Mencit jantan dan betina pada kelompok dosis 1500 dan 2000 mg/kg bb menunjukkan gejala toksik. Berat organ relatif selama 14 hari tidak terdapat perbedaan yang signifikan antara kelompok. Hasil makropatologi organ, tidak dijumpai perbedaan warna pada semua kelompok. Pada pemeriksaan histopatologi dapat dilihat kerusakan ringan



This work is licensed under a Creative  
Commons Attribution-ShareAlike 4.0  
International.

<http://doi.org/10.32734/idjpcr.v6i2.13724>

---

pada organ ginjal pada dosis 1500 dan 2000 mg/kg bb dan hasil LD<sub>50</sub> adalah 1819 mg/kg bb yang menunjukkan kategori toksik ringan. Ekstrak etanol daun Sirsak memiliki efek toksik ringan pada mencit.

**Kata Kunci:** Toksisitas akut, daun sirsak, histopatologi ginjal, LD<sub>50</sub>

---

## 1. Pendahuluan

Penggunaan bahan-bahan alami asal tumbuhan (herbal) untuk mengobati berbagai penyakit sebenarnya bukan merupakan hal yang baru bagi masyarakat di Indonesia. Meskipun sempat tergeser oleh adanya modernisasi di bidang kesehatan, tetapi pada kenyataannya obat-obatan herbal tak kalah ampuh untuk mengobati penyakit. Obat-obatan herbal cenderung lebih aman karena tidak memberikan efek samping negatif yang terlalu besar bagi tubuh. Obat-obatan herbal juga cenderung lebih murah. Tidak mengherankan bila tren obat-obatan herbal kembali marak di kalangan masyarakat Indonesia [1].

Sirsak merupakan tanaman tahunan yang dapat tumbuh dan berbuah sepanjang tahun jika kondisi air tanah terpenuhi selama pertumbuhannya. Tanaman ini berasal dari daerah tropis di Benua Amerika, yaitu Hutan Amazon (Amerika Selatan), Karibia, dan Amerika Tengah. Tanaman sirsak memiliki nama spesies *Annona muricata* L., merupakan salah satu tanaman dari kelas *Dicotyledonae*, keluarga *Annonaceae*, dan genus *Annona*. Nama sirsak sendiri berasal dari bahasa Belanda yaitu *Zuurzak* yang berarti "kantong asam" [2]. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun sirsak memiliki efek nefroprotektif [3-4], imunomodulator [5], antidiabetes [6], antinflamasi [7], menurunkan kadar asam urat [8] dan kolesterol [9]. Kandungan senyawa kimia yang terkandung dalam daun sirsak diantaranya adalah alkaloid, flavonoid, saponin, steroid, terpenoid, tanin dan polifenol [10].

Telah banyak dilakukan penelitian efek farmakologis dari daun sirsak [5-9], perlu dilakukan uji toksisitas untuk mengetahui keamanan dari daun sirsak. Uji toksisitas akut adalah salah satu uji praklinik yang penting untuk menentukan efek toksik suatu senyawa yang akan terjadi pada waktu yang singkat setelah pemberiannya dalam takaran tertentu [11]. Prinsip uji toksisitas akut oral yaitu, sediaan uji dalam beberapa tingkat dosis diberikan pada beberapa kelompok hewan uji dengan satu dosis per kelompok, kemudian dilakukan pengamatan terhadap adanya efek toksik dan kematian [12]. Tujuan uji toksisitas akut adalah untuk mendeteksi toksisitas intrinsik suatu zat, menentukan organ sasaran dan kepekaan spesies dan untuk memperoleh nilai LD<sub>50</sub> suatu bahan/sediaan dan penentuan penggolongannya dalam pelabelan [12]. Tujuan lain dilakukannya uji toksisitas akut yaitu untuk mengetahui hubungan antara dosis dengan timbulnya efek seperti perubahan perilaku, koma, dan kematian, mengetahui gejala-gejala toksisitas akut sehingga bermanfaat untuk membantu diagnosis adanya kasus keracunan dan untuk memenuhi persyaratan regulasi jika zat uji akan dikembangkan menjadi obat [13].

Ginjal merupakan salah satu organ vital yang berfungsi sebagai pembentukan urin, mengatur keseimbangan asam basa, mengatur produksi eritrosit, sintesis glukosa, mengatur keseimbangan air dan urin dan keseimbangan elektrolit. Fungsi ginjal dapat menurun disebabkan karena salah satu faktor yaitu adanya penyakit pada organ ini. Pada berbagai keadaan yang menghalangi fungsi ginjal maka akan menimbulkan gagal ginjal akut maupun kronik [14].

Berdasarkan uraian diatas, ekstrak etanol memiliki berbagai efek farmakologis. Sebelum dipasarkan, perlu dilakukan uji toksisitas untuk mengetahui keamanan ekstrak ini. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui potensi toksisitas ekstrak etanol daun sirsak.

## 2. Metode

Penelitian ini menggunakan metode eksperimental dengan tahapan penelitian yaitu pengumpulan tumbuhan, identifikasi tumbuhan, pembuatan simplisia, pembuatan ekstrak, pengujian efek toksisitas akut secara oral terhadap mencit jantan dan betina, pengamatan gejala toksik, berat badan, berat organ relatif, kematian mencit, penentuan LD<sub>50</sub> menggunakan metode Reed dan Muench, pemeriksaan makropatologi dan histopatologi organ ginjal mencit.

## 2.1. Bahan

Bahan tumbuhan yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun sirsak (*Annona muricata* L.). Bahan kimia yang digunakan yaitu akuades (air suling), CMC-Na (Sodium Carbocymethyl Cellulose), formaldehid 37 %,  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$ , dan  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ . Bahan yang digunakan untuk pembuatan preparat histopatologi adalah larutan hemotaksilin, larutan eosin, etanol 70%, etanol absolut, silol, parafin cair dan cairan perekat (DPX).

## 2.2 Hewan Penelitian

Hewan yang digunakan dalam penelitian ini adalah mencit (*Mus musculus*) betina dan jantan sebanyak 50 ekor yaitu 25 ekor jantan dan 25 ekor betina dengan berat badan 20–30 g. Mencit diaklimatisasi terlebih dahulu selama 14 hari di dalam kandang, diberi makan pelet dan minum air suling.

## 2.3 Penyiapan Bahan Tumbuhan

### 2.3.1 Pengumpulan Bahan Tumbuhan

Pengumpulan bahan dilakukan secara purposif yaitu bahan tumbuhan diambil dari satu tempat saja tanpa membandingkan dengan tumbuhan yang sama dari daerah lain. Sampel yang digunakan adalah daun sirsak (*Annona muricata* L.) yang diperoleh dari Dusun 4, Desa Durin Tonggal, Kecamatan Pancur Batu, Kabupaten Deli Serdang, Provinsi Sumatera Utara.

### 2.3.2 Identifikasi Tumbuhan

Identifikasi tumbuhan daun sirsak dilakukan di Herbarium Medanese (MEDA), Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sumatera Utara.

### 2.3.3 Pembuatan Simplisia

Helai daun sirsak ke 4 dan 5 disortir dan dipisahkan antara tangkai dan daunnya, dibersihkan dari pengotor, dicuci bersih dengan air mengalir, ditiriskan lalu ditimbang beratnya sebagai berat basah, dirajang, kemudian dikeringkan di dalam lemari pengering hingga kering dan rapuh (mudah dipatahkan), ditimbang berat keringnya, selanjutnya simplisia kering diserbuk dengan blender dan disimpan dalam kantong plastik kering, diberi etiket kemudian disimpan di tempat yang terlindung dari cahaya matahari langsung.

## 2.4. Pemeriksaan Karakterisasi Simplisia

### 2.4.1. Pemeriksaan makroskopik

Pemeriksaan makroskopik dilakukan dengan mengamati bentuk, ukuran, warna, bau dan rasa dari daun sirsak segar dari simplisia.

### 2.4.2. Pemeriksaan mikroskopik

Pemeriksaan mikroskopik dilakukan terhadap serbuk simplisia daun sirsak. Serbuk simplisia ditaburkan di atas kaca objek yang telah ditetesi dengan larutan kloralhidrat dan ditutup dengan kaca penutup, kemudian diamati di bawah mikroskop.

### 2.4.3. Penetapan kadar air

Penetapan kadar air dilakukan dengan metode Azeotropi (destilasi toluen) [15].

### 2.4.4. Penetapan kadar sari larut dalam air

Sebanyak 5 g serbuk simplisia dikeringkan dimaserasi selama 24 jam dalam 100 mL campuran air dan kloroform (2,5 mL kloroform dalam air sampai 1000 mL) dalam labu bersumbat sambil sesekali dikocok selama 6 jam pertama, kemudian dibiarkan selama 18 jam. Disaring, sejumlah 20 mL filtrat diuapkan sampai kering dalam cawan dangkal berdasar rata dan telah ditara, sisanya dipanaskan pada suhu 105°C sampai bobot tetap. Kadar sari larut dalam air dihitung terhadap bahan yang telah dikeringkan di udara [16].

### 2.4.5. Penetapan kadar sari larut dalam etanol

Sebanyak 5 g serbuk simplisia yang telah dikeringkan dimaserasi selama 24 jam dalam 100 ml etanol 96% dalam labu bersumbat sambil dikocok sesekali selama 6 jam pertama, kemudian dibiarkan selama 18 jam. Disaring, 20 mL filtrat diuapkan sampai kering dalam cawan berdasar rata yang telah ditara dan sisa filtrat dipanaskan sampai kering pada suhu 105°C sampai bobot tetap. Kadar sari larut dalam etanol dihitung terhadap bahan yang telah dikeringkan [16].

#### 2.4.6. Penetapan kadar abu total

Sebanyak 2 g serbuk simplisia yang telah digerus dan ditimbang seksama dimasukkan dalam kurs porselin yang telah dipijar dan ditara, kemudian diratakan kurs dipijar perlahan, kemudian naikan suhu bertahap hingga 600°C sampai arang habis, jika arang masih tidak dapat dihilangkan, ditambahkan air panas, saring melalui kertas saring bebas abu. Pijarkan sisa dan kertas saring dalam kurs yang sama. Masukkan filtrat ke dalam kurs, uapkan, pijarkan hingga bobot tetap, timbang. Kadar abu dihitung terhadap bahan yang telah dikeringkan [16].

#### 2.4.7. Penetapan kadar abu yang tidak larut dalam asam

Abu yang diperoleh dalam penetapan kadar abu total dididihkan dalam 25 ml asam klorida 2 N selama 5 menit, bagian yang tidak larut dalam asam dikumpulkan, disaring melalui kertas saring bebas abu dan dicuci dengan air panas, dipijarkan kemudian didinginkan dan ditimbang sampai bobot tetap. Kadar abu yang tidak larut dalam asam dihitung terhadap bahan yang telah dikeringkan [16].

#### 2.5. Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia dari serbuk simplisia meliputi pemeriksaan golongan senyawa alkaloida, glikosida, antrakuinon glikosida, flavanoida, saponin, dan steroida/triterpenoida [16].

#### 2.6. Penyiapan ekstrak etanol daun sirsak

Sebanyak 900 g serbuk simplisia daun sirsak dimasukkan ke wadah kaca berwarna gelap, kemudian dituangi dengan etanol 96% sebanyak 6750 mL. Ditutup dan dibiarkan selama 5 hari dari terlindung cahaya sambil sering diaduk, diserkai dan diperas. Ampas dicuci dengan etanol 96% dipindahkan ke dalam bejana tertutup, dibiarkan di tempat sejuk, terlindung dari cahaya selama 2 hari, selanjutnya disaring. Maserat etanol yang diperoleh diuapkan dengan menggunakan *rotary evaporator* pada temperatur  $\pm 40$  °C sampai diperoleh ekstrak kental kemudian dipekatkan dengan pemanasan di penangas air pada temperatur  $\pm 40$  °C.

#### 2.7. Pengujian Efek Toksik

Pengujian efek toksisitas meliputi pembuatan EEDS, pengujian toksisitas akut meliputi gejala-gejala klinis, kematian hewan, LD<sub>50</sub>, penimbangan berat badan, makropatologi dan histopatologi. Rekomendasi persetujuan etik penelitian diperoleh dari Komite Etik Penelitian Hewan FMIPA USU dengan nomor 00233/KEPH-FMIPA/2022.

#### 2.8. Uji toksisitas akut

Penelitian ini dilakukan berdasarkan metode Reed and Muench [15]. Hewan uji yaitu mencit (*Mus musculus*) jantan dan betina sebanyak 50 ekor dengan bobot 20-30 g. Mencit dibagi dalam 5 kelompok, tiap kelompok terdiri dari 10 ekor mencit yaitu mencit jantan dan 5 ekor mencit betina dan 5 ekor mencit jantan. Kelompok 1 sebagai kontrol, 2-5 sebagai kelompok perlakuan. Pembagian kelompok sebagai berikut:

Kelompok 1: Kontrol, diberi larutan suspensi CMC-Na 0,5% b/v

Kelompok 2: Perlakuan, diberi ekstrak etanol daun sirsak dosis 500 mg/kg bb

Kelompok 3: Perlakuan, diberi ekstrak etanol daun sirsak dosis 1000 mg/kg bb

Kelompok 4: Perlakuan, diberi ekstrak etanol daun sirsak dosis 1500 mg/kg bb

Kelompok 5: Perlakuan, diberi ekstrak etanol daun sirsak dosis 2000 mg/kg bb

#### 2.9. Pengamatan

Penimbangan mencit dilakukan pada hari ke-0, kemudian pada hari ke-1 diberi sediaan uji secara oral dan dilakukan pengamatan selama 14 hari [18].

##### 2.9.1. Gejala Toksik

Pengamatan dilakukan setiap hari, setelah pemberian diamati adanya kejang, salivasi, diare, lemas, tidur dan koma [19].

##### 2.9.2. Pengamatan Berat Badan

Mencit ditimbang setiap hari selama 14 hari untuk melihat adanya pengaruh EEDS terhadap berat badan mencit. Perubahan berat badan mencit dianalisis seminggu sekali. Pada akhir penelitian, hewan yang masih bertahan hidup ditimbang dan kemudian dikorbankan dengan cara dislokasi leher.

### 2.9.3. Pengamatan Kematian Hewan

Mencit diamati kematiannya dari hari pertama sampai hari terakhir. Mencit yang mati setelah pemberian suspensi sediaan segera mungkin di bedah pada bagian perut secara melintang dan diambil organ ginjal. Hewan uji yang masih hidup sampai akhir terakhir, dikorbankan secara fisik dengan dislokasi leher, selanjutnya dibedah, ditimbang dan diambil organnya.

### 2.9.4. Penentuan $LD_{50}$

Penentuan  $LD_{50}$  dilakukan dengan metode Reed dan Muench [17]. Persamaan untuk mendapatkan  $LD_{50}$  yaitu :

$$h = \frac{50 - a}{b - a}$$

$$i = \log \frac{k}{s}, g = h \times i, y = g + \log s, LD_{50} = \text{anti log } y$$

Dimana:

h: Ukuran jarak

a: Presentase kematian yang lebih kecil dan paling dekat dari 50%

b: Presentase kematian yang lebih besar dan paling dekat dari 50%

i: Kenaikan dosis

k: Dosis yang menyebabkan kematian yang lebih besar dan paling dekat dari 50%

s: Dosis yang menyebabkan kematian yang lebih kecil dan paling besar dari 50%

g: Hasil perkalian antara kematian dosis dengan ukuran jarak

y: Hasil penambahan antara g dan log s

### 2.9.5. Pengamatan Berat Organ Relatif

Organ ginjal dicuci dengan natrium klorida, dikeringkan terlebih dahulu dengan kertas penyerap dan ditimbang. Hasil yang dianalisis adalah berat organ relatif, yaitu berat organ dibagi berat badan.

### 2.9.6. Makropatologi Organ

Organ ginjal yang diamati secara visual yaitu mengamati warna, permukaan, bentuk, konsistensi organ. Perubahan warna menjadi salah satu parameter terjadinya efek toksik yang bertujuan mendapatkan informasi mengenai toksisitas zat uji yang berkaitan dengan organ sasaran dan efek terhadap organ tersebut [20].

### 2.9.7. Histopatologi Organ

Organ ginjal dicuci dengan natrium klorida, ditimbang dan dimasukkan kedalam pot berisi formalin 10%. Organ-organ tersebut dikirim untuk diobservasi di bagian histopatologi kedokteran Universitas Sumatera Utara, untuk pembuatan preparat histopatologi dilakukan di Laboratorium Patologi Anatomi Rumah Sakit Vina Estetica, Medan, Sumatera Utara. Dilakukan pengamatan preparat histopatologi dengan menggunakan mikroskop untuk melihat adanya perubahan atau kerusakan struktur histopatologi ginjal.

### 2.9.8. Analisis Data

Pengamatan berat badan dan organ relatif dianalisis dengan menggunakan uji normalitas, jika normal dilanjutkan dengan *Two Way Analysis of Variance* (ANOVA) dan dilanjutkan dengan uji *Post Hoc Tukey* menggunakan program *Statistic Product and Service Solutions* (SPSS).

## 3. Hasil dan Pembahasan

### 3.1. Hasil Identifikasi Tumbuhan

Identifikasi tumbuhan yang dilakukan oleh Herbarium Medanense (MEDA), Universitas Sumatera Utara Medan menunjukkan bahwa tumbuhan yang diteliti adalah tumbuhan daun sirsak (*Annona muricata* L.) suku Annonaceae.

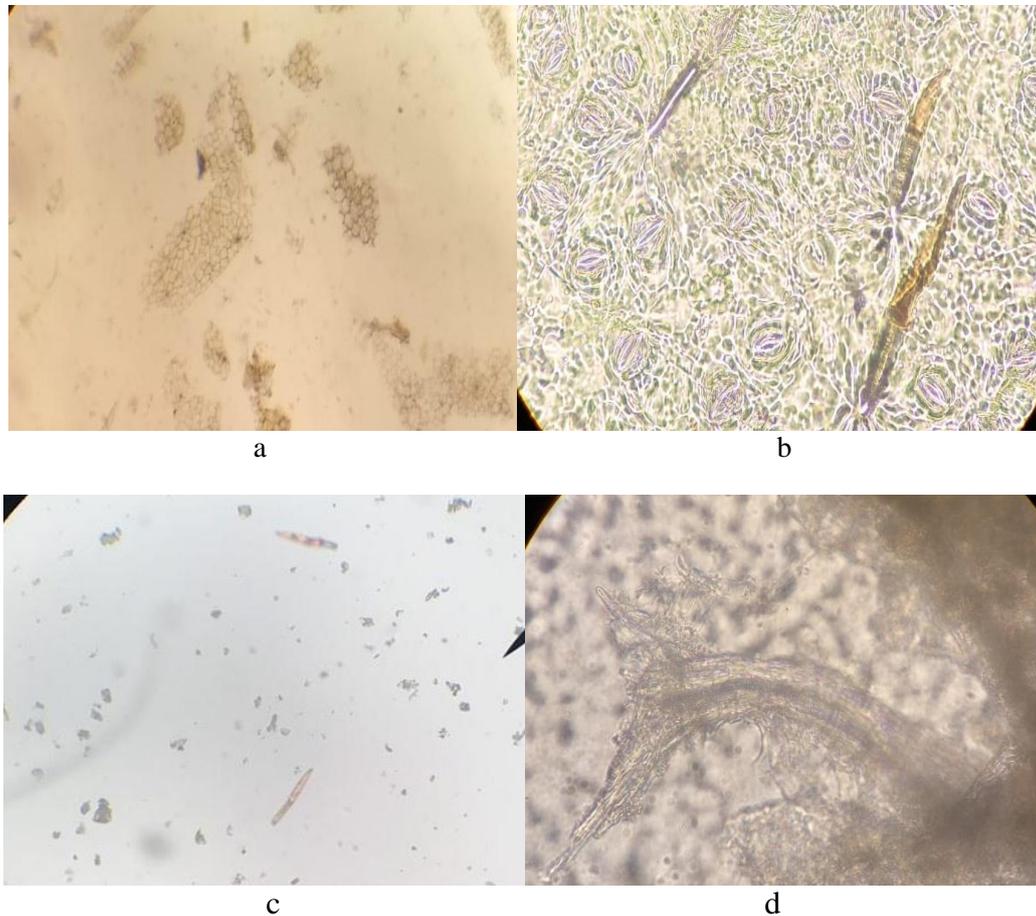
### 3.2. Hasil Pemeriksaan Karakteristik Simplisia

#### 3.2.1. Hasil pemeriksaan makroskopik simplisia

Hasil pemeriksaan makroskopik simplisia daun sirsak menunjukkan simplisia berwarna hijau tua, bertekstur keras, sedikit berbau, tidak berasa dan bentuk daun bulat memanjang.

### 3.2.2. Hasil pemeriksaan mikroskopik serbuk simplisia

Hasil pemeriksaan mikroskopik serbuk simplisia daun sirsak yaitu adanya epidermis atas, rambut penutup, stomata tipe anomositik, pembuluh kayu dengan penebalan tangga. Hasil pemeriksaan mikroskopik serbuk simplisia daun sirsak dapat dilihat pada Gambar 1.



**Gambar 1.** Mikroskopik serbuk simplisia daun sirsak (*Annona muricata* L.). (a) Epidermis atas, (b) Stomata tipe anomositik, (c) Rambut penutup, (d) Pembuluh kayu dengan penebalan tangga.

### 3.2.3. Hasil pemeriksaan karakteristik serbuk simplisia

Standarisasi suatu simplisia dan ekstrak adalah pemenuhan terhadap persyaratan sebagai bahan obat dan menjadi penetapan nilai untuk berbagai parameter produk [21]. Hasil pemeriksaan karakteristik serbuk simplisia daun sirsak dapat dilihat pada Tabel 1.

**Tabel 1.** Hasil pemeriksaan karakteristik simplisia daun sirsak

No.	Karakteristik simplisia	Hasil
1	Kadar air	7,95%
2	Kadar sari larut dalam air	24,24%
3	Kadar sari larut dalam etanol	24,03%
4	Kadar abu total	6,43%
5	Kadar abu tidak larut dalam asam	0,89%

Kadar air simplisia daun sirsak yang diperoleh dalam penelitian ini adalah 7,95%, hal ini sesuai dengan standar kadar air simplisia secara umum dengan syarat yaitu tidak lebih dari 10% [16]. Pemeriksaan kadar air

dilakukan untuk mengetahui kandungan air dalam simplisia, khususnya yang mudah mengabsorpsi air dan membusuk akibat kadar air yang tinggi. Kadar air yang tinggi akan meningkatkan pertumbuhan bakteri dan jamur [15].

Kadar sari larut air simplisia diperoleh 24,24% dan kadar sari larut etanol sebesar 24,03%. Hal ini menunjukkan bahwa jumlah senyawa polar yang terdapat dalam air lebih besar daripada jumlah senyawa kurang polar (semi polar maupun non polar) yang dapat terlarut dalam etanol.

Kadar abu total simplisia daun sirsak yang diperoleh dalam penelitian ini adalah 6,43% dan kadar abu tidak larut dalam asam sebesar 0,89%. Penetapan kadar abu total dilakukan dengan tujuan memberikan gambaran kandungan mineral internal dan eksternal yang berasal dari proses awal sampai terbentuknya simplisia. Kadar abu total berkaitan dengan mineral baik senyawa organik maupun anorganik, sedangkan abu tidak larut dalam asam bertujuan untuk mengetahui jumlah abu yang diperoleh dari faktor eksternal, bersumber dari pengotor yang berasal dari pasir atau tanah silikat [22]. Monografi dari simplisia daun sirsak tidak ditemukan di buku *Materia Medika Indonesia* (MMI), sehingga tidak ada acuan untuk menentukan parameter karakteristik simplisia tersebut.

### 3.3. Hasil Skrining Fitokimia Simplisia

Skrining fitokimia yang dilakukan terhadap serbuk simplisia daun sirsak bertujuan untuk mendapatkan informasi golongan senyawa metabolit sekunder yang terdapat di dalamnya. Hasil skrining fitokimia serbuk simplisia dapat dilihat pada Tabel 2.

**Tabel 2.** Hasil skrining fitokimia serbuk simplisia daun sirsak

No.	Golongan senyawa	Hasil Serbuk simplisia
1	Alkaloida	+
2	Glikosida	+
3	Saponin	+
4	Tanin	+
5	Flavonoida	+
6	Steroid/triterpenoid	+

Keterangan: (+) positif: mengandung golongan senyawa

(-) negatif: tidak mengandung golongan senyawa

Tabel 2 menunjukkan bahwa serbuk simplisia daun sirsak memiliki kandungan senyawa kimia alkaloida, glikosida, flavanoid, saponin, tanin dan steroid/triterpenoid. Hasil uji fitokimia ekstrak etanol daun sirsak dengan metode Kromatografi Lapis Tipis (KLT) menunjukkan adanya kandungan senyawa-senyawa metabolit sekunder berupa saponin, terpenoid, steroid, flavonoid, tanin dan alkaloid [23].

### 3.4. Ekstraksi Daun Sirsak

Ekstraksi daun sirsak dilakukan dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 96%. Dari 900 g serbuk simplisia yang diekstrak diperoleh ekstrak etanol 150 g (randemen 16%).

### 3.5. Pengujian Toksisitas Akut

#### 3.5.1. Hasil Pengamatan Gejala Toksik

Hasil pengamatan gejala toksik dapat dilihat pada Tabel 3.

**Tabel 3.** Hasil pengamatan gejala toksik

No.	Dosis	Jenis kelamin	Lemas	Tremor	Salivasi	Urinasi	Diare
1	K	Jantan	-	-	-	+	-
		Betina	-	-	-	+	-
2	P1	Jantan	-	-	-	+	-
		Betina	-	-	-	+	-
3	P2	Jantan	-	-	-	+	-
		Betina	-	-	-	+	-
4	P3	Jantan	+	+	-	+	+
		Betina	+	+	-	+	+
5	P4	Jantan	+	+	-	+	+
		Betina	+	+	-	+	+

Keterangan: K= kontrol CMC-Na 0,5%; P1= dosis 500 mg/kg bb; P2= dosis 1000 mg/kg bb; P3= dosis 1500 mg/kg bb; P4= dosis 2000 mg/kg bb; (-) = tidak menunjukkan gejala toksik; (+) = menunjukkan gejala toksik

Tabel 3 menunjukkan bahwa setelah pemberian EEDS pada mencit tidak ditemukan gejala toksik pada kelompok kontrol CMC-Na 0,5%, EEDS dosis 500 dan 1000 mg/kg bb. Pada dosis 1500 dan 2000 mg/kg bb ditemukan gejala klinis yaitu lemas, tremor, urinasi dan diare baik pada mencit jantan dan betina. Hal tersebut menunjukkan adanya hubungan antara dosis efek toksik, dimana makin besar dosis yang diberikan maka makin besar pula efek toksik yang timbul [20].

### 3.5.2. Hasil Pengamatan Kematian Hewan

Hasil pengamatan kematian hewan selama 14 hari dapat dilihat pada Tabel 4.

**Tabel 4.** Hasil pengamatan kematian mencit selama 14 hari

Kelompok	Jumlah awal mencit (ekor)		Jumlah mencit yang mati (ekor)		Jumlah mencit yang hidup (ekor)	
	Jantan	Betina	Jantan	Betina	Jantan	Betina
K	5	5	0	0	5	5
P1	5	5	0	0	5	5
P2	5	5	0	0	5	5
P3	5	5	1	2	4	3
P4	5	5	2	3	3	2

Keterangan: K= kontrol CMC-Na 0,5%; P1= dosis 500 mg/kg bb; P2= dosis 1000 mg/kg bb; P3= dosis 1500 mg/kg bb; P4= dosis 2000 mg/kg bb

Tabel 4 menunjukkan bahwa setelah pemberian EEDS pada kelompok kontrol, dosis 500 dan 1000 mg/kg bb tidak terdapat mencit yang mati, sedangkan pada dosis 1500 mg/kg bb terdapat 3 ekor mencit yang mati dan pada dosis 2000 mg/kg bb terdapat 5 ekor mencit yang mati. Kematian pada mencit betina lebih banyak daripada mencit jantan. Perbedaan ketoksikan dapat terjadi karena hewan betina dengan hewan jantan mempunyai sistem hormonal yang berbeda. Hormon yang diproduksi oleh kelenjar endokrin mempengaruhi secara langsung perbedaan dari ketoksikan [24].

### 3.5.3. Nilai $LD_{50}$

Daya toksisitas suatu bahan biasanya dihitung dari nilai  $LD_{50}$ . Dosis tersebut adalah konsentrasi suatu bahan yang dapat menyebabkan kematian sampai 50% dari jumlah hewan yang diuji. Nilai  $LD_{50}$  digunakan untuk mengelompokkan dosis toksik dari suatu bahan biasanya bervariasi untuk setiap spesies, sehingga  $LD_{50}$  tersebut merupakan perkiraan [25]. Asumsi yang dipakai bahwa kematian seekor hewan akibat dosis tertentu akan mengalami kematian juga oleh dosis yang lebih besar dan hewan bertahan hidup pada dosis tertentu juga akan tetap bertahan hidup pada dosis yang lebih rendah [20].

Hasil perhitungan berdasarkan metode Reed and Muench. Hasil perhitungan nilai  $LD_{50}$  pada mencit yang didapat adalah sebesar 1819 mg/kg bb. Menurut BPOM RI (2014) termasuk didalam kategori toksisitas ringan sebab nilai  $LD_{50}$  diantara 500-5000 mg/kg bb [26].

### 3.5.4. Hasil Pengamatan Berat Badan

Pengamatan berat badan dilakukan untuk mengetahui perubahan berat badan mencit yang merupakan salah satu parameter efek toksik selain jumlah kematian dan berat organ. Penimbangan berat badan dilakukan setiap hari selama 14 hari, kemudian data berat badan dirata-ratakan setiap minggu untuk analisis secara statistik [19]. Hasil pengamatan berat badan dapat dilihat pada Tabel 5 yang menunjukkan bahwa tidak terdapat perbedaan yang signifikan pada rata-rata berat badan minggu I dan II baik mencit jantan dan betina antara kelompok kontrol dengan perlakuan yang ditunjukkan nilai  $p > 0,05$ . Dengan demikian dapat dilihat bahwa pemberian ekstrak etanol daun sirsak tidak berpengaruh terhadap berat badan pada mencit jantan maupun betina.

Parameter yang merupakan indikator sensitif untuk mengetahui toksisitas yaitu gejala klinis dan berat badan. Hewan uji diamati setiap hari untuk gejala klinis dan berat badan diukur secara berkala [27]. Dilakukan pengamatan terhadap berat badan untuk mengetahui perubahan berat badan mencit yang merupakan salah satu parameter dan efek toksik [19].

**Tabel 5.** Berat badan mencit

Minggu ke-	Jenis kelamin	Rata-rata berat badan mencit (g) ± SD								
		K	P1	p	P2	p	P3	p	P4	P
I	Jantan	26,82± 0,44	26,88 ± 0,43	0,591	26,58 ± 0,37	0,130	26,95 ± 0,12	0,995	26,76 ± 0,40	0,665
	Betina	27,04 ± 0,40	26,50 ± 0,37	0,152	26,48 ± 0,37	0,020	27,06 ± 0,11	0,701	26,50± 0,37	0,188
II	Jantan	27,12 ± 0,34	27,10 ± 0,33	0,595	26,96 ± 0,51	0,427	27,32 ± 0,33	0,742	27,16 ± 0,20	0,994
	Betina	27,18 ± 0,35	26,78 ± 0,33	0,154	26,84 ± 0,18	0,092	27,36 ± 0,05	0,233	26,95 ± 0,21	0,694

Keterangan: K= kontrol CMC-Na 0,5%; P1= dosis 500 mg/kg bb; P2= dosis 1000 mg/kg bb; P3= dosis 1500 mg/kg bb; P4= dosis 2000 mg/kg bb; SD= standar deviasi; p= angka kebermaknaan

### 3.5.5. Pengamatan Berat Organ Relatif

Pengamatan gejala toksik dilakukan selama 14 hari. Hasil pengamatan menunjukkan bahwa terdapat 8 ekor mencit yang mati. Jika selama 14 hari tidak ada mencit yang mati maka semua mencit yang masih hidup dibedah lalu diambil organ ginjalnya untuk dilakukan pemeriksaan berat organ relatif, makropatologi dan histopatologi. Hasil pemeriksaan berat organ relatif ginjal mencit yang didata pada akhir perlakuan dapat dilihat pada Tabel 6.

**Tabel 6.** Berat organ relatif mencit

Organ	JK	Rata-rata berat organ relatif ± SD								
		K	P1	P	P2	p	P3	p	P4	p
Ginjal kiri	J	0,70 ± 0,047	0,72 ± 0,034	0,59 2	0,66 ± 0,099	0,117	0,72 ± 0,065	1,000	0,72 ± 0,025	1,000
	B	0,75 ± 0,049	0,66 ± 0,030	0,15 3	0,67 ± 0,060	0,118	0,74 ± 0,013	0,919	0,72 ± 0,017	0,846

Ginjal kanan	J	0,73 ± 0,035	0,71 ± 0,029	0,50 ± 0	0,68 ± 0,076	0,285	0,73 ± 0,047	0,996	0,75 ± 0,063	0,965
	B	0,73 ± 0,053	0,66 ± 0,066	0,11 ± 0,06	0,67 ± 0,062	0,053	0,75 ± 0,055	0,721	0,75 ± 0,016	0,520

Keterangan: K= kontrol CMC-Na 0,5%; P1= dosis 500 mg/kg bb; P2= dosis 1000 mg/kg bb; P3= dosis 1500 mg/kg bb; P4= dosis 2000 mg/kg bb; SD= standar deviasi; p= angka kebermaknaan; JK= Jenis Kelamin; J= Jantan; B= Betina

Hasil uji statistik pada Tabel 6 menunjukkan bahwa tidak terdapat perbedaan yang signifikan pada berat organ relatif baik mencit jantan dan betina antara kelompok kontrol dengan perlakuan yang ditunjukkan nilai  $p > 0,05$ . Dengan demikian dapat dilihat bahwa pemberian ekstrak etanol daun sirsak tidak berpengaruh terhadap berat organ pada mencit jantan maupun betina. Berat organ relatif ginjal normal berkisaran antara 0,47g - 1,13g [28].

### 3.5.6. Pemeriksaan Makropatologi Organ

Pemeriksaan makropatologi organ dilakukan dengan mengamati warna, bentuk permukaan dan konsistensi organ ginjal mencit jantan dan betina. Hasil pemeriksaan makropatologi organ dapat dilihat pada Tabel 7.

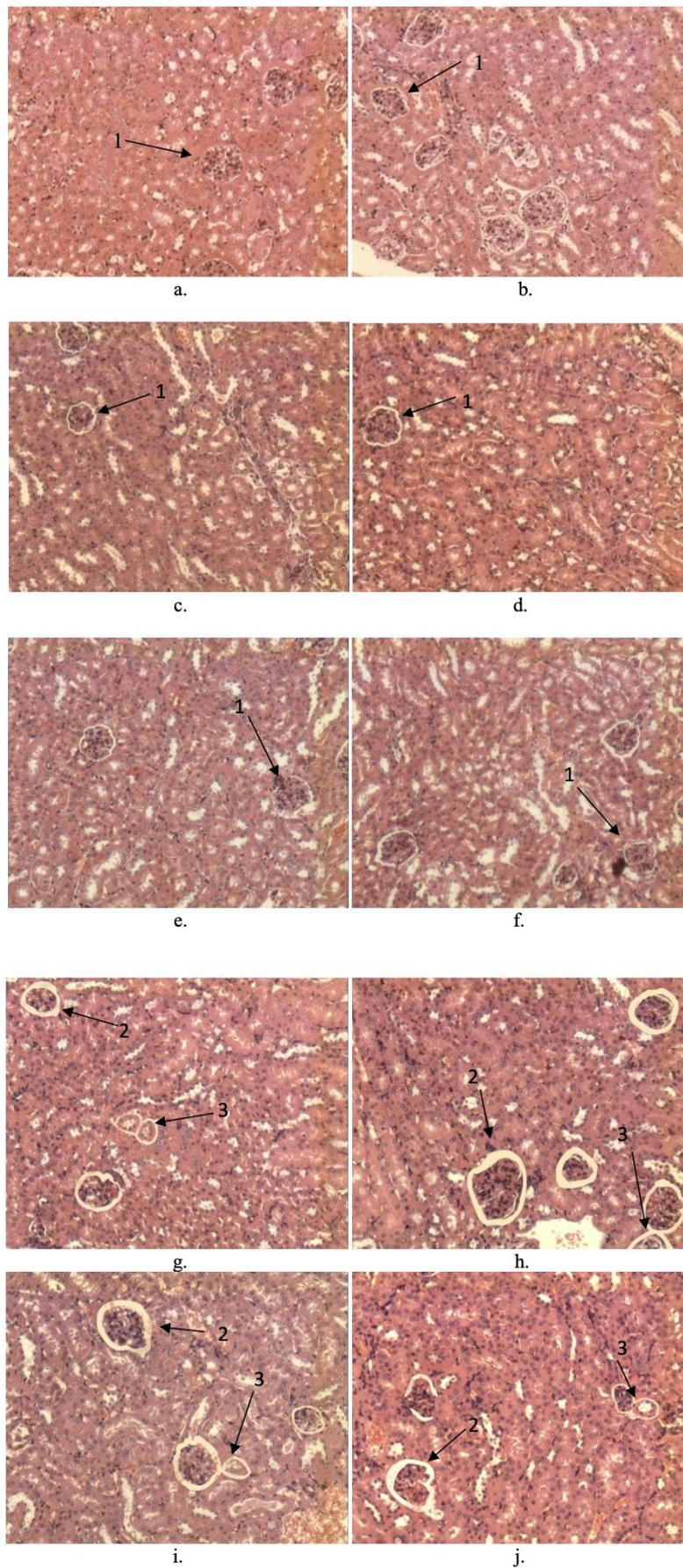
**Tabel 7** Hasil pemeriksaan makropatologi organ ginjal mencit

Kelompok	Jenis kelamin	Pengamatan		
		Warna	Permukaan	Konsistensi
Kontrol Na-CMC 0,5% b/v	Jantan	Merah kecoklatan	Licin	Kenyal
	Betina	Merah kecoklatan	Licin	Kenyal
EEDS Dosis 500 mg/kg bb	Jantan	Merah kecoklatan	Licin	Kenyal
	Betina	Merah kecoklatan	Licin	Kenyal
EEDS Dosis 1000 mg/kg bb	Jantan	Merah kecoklatan	Licin	Kenyal
	Betina	Merah kecoklatan	Licin	Kenyal
EEDS Dosis 1500 mg/kg bb	Jantan	Merah kecoklatan	Licin	Kenyal
	Betina	Merah kecoklatan	Licin	Kenyal
EEDS Dosis 2000 mg/kg bb	Jantan	Merah kecoklatan	Licin	Kenyal
	Betina	Merah kecoklatan	Licin	Kenyal

Tabel 7 menunjukkan bahwa makropatologi organ ginjal mencit jantan maupun betina dari semua kelompok, baik kelompok kontrol maupun perlakuan masih dalam keadaan normal yaitu berwarna merah kecoklatan, permukaannya licin dan konsistensinya kenyal. Kriteria normal pada organ yaitu bila tidak ditemukan perubahan warna, perubahan tekstur permukaan dan perubahan konsistensi [29]. Adanya perubahan warna organ menjadi salah satu parameter suatu efek toksik pada organ. Umumnya toksikan hanya mempengaruhi satu atau beberapa organ. Hal ini dapat disebabkan lebih pekannya suatu organ, atau lebih tingginya kadar kimia dan metabolitnya di organ [20].

### 3.5.7. Pemeriksaan Histopatologi Organ

Pengamatan histopatologi dilakukan pada akhir masa uji, yaitu pada hari ke-15. Mencit yang masih hidup dibedah untuk diambil organ vitalnya yaitu ginjal. Melalui pengamatan histopatologi ini dapat dilihat kerusakan organ pada tingkat seluler yang tidak terlihat secara makroskopik Gambar 2.



**Gambar 2.** Hasil pemeriksaan histopatologi organ ginjal EEDS mencit jantan dan betina. (a) CMC-Na 0,5% jantan, (b) CMC-Na 0,5% betina, (c) EEDS Dosis 500 mg/kg bb jantan, (d) EEDS Dosis 500 mg/kg bb betina, (e) EEDS Dosis 1000 mg/kg bb jantan, (f) EEDS Dosis 1000 mg/kg bb betina, (g) EEDS Dosis 1500 mg/kg

bb jantan, (h) EEDS Dosis 1500 mg/kg bb betina, (i) EEDS Dosis 2000 mg/kg bb jantan, (j) EEDS Dosis 2000 mg/kg bb betina. 1 = glomerulus normal, 2 = pembesaran glomerulus, 3 = degenerasi hidrofik.

Berdasarkan hasil pemeriksaan histopatologi organ ginjal mencit pada Gambar 2 dapat dilihat bahwa organ ginjal mencit kelompok kontrol, dosis 500 mg/kg bb, dan dosis 1000 mg/kg bb baik jantan maupun betina masih mempunyai gambaran histopatologi yang normal yang ditunjukkan dengan adanya glomerulus yang masih utuh dengan sitoplasma yang berwarna ungu dan sel yang masih utuh.

Kelompok dosis 1500 mg/kg bb dan 2000 mg/kg bb baik jantan maupun betina mengalami kerusakan yang ditunjukkan dengan adanya glomerulus yang membesar dengan sitoplasma yang berwarna ungu yang sudah mulai pudar karena terjadi degenerasi hidropik. Hasil dari pengamatan pada semua kelompok menunjuk

kan bahwa persen degenerasi hidrofik dan pembesaran glomerulus meningkat seiring dengan meningkatnya dosis pemberian ekstrak. Degenerasi hidrofik merupakan peristiwa meningkatnya kadar air di intraseluler yang menyebabkan sitoplasma dan organel-organel membengkak dan membentuk vakuola-vakuola. Rusaknya permeabilitas membran sel menyebabkan terhambatnya aliran  $\text{Na}^+$  keluar dari sel sehingga menyebabkan ion-ion dan air masuk secara berlebihan ke dalam sel. Degenerasi hidropik merupakan respon awal sel terhadap bahan-bahan yang bersifat toksik, serta merupakan proses awal dari kematian sel [30]. Kadar  $\text{Na}^+$  intrasel diatur oleh pompa  $\text{Na}^+$  yang memerlukan ATP, jika ATP berkurang maka akan mengakibatkan masuknya  $\text{Na}^+$  ke intrasel melebihi jumlah normalnya [13]. Kerusakan sel secara terus-menerus akan mencapai suatu titik sehingga terjadi kematian sel [12]. Paparan zat toksik pada sel apabila cukup lama, maka sel tidak dapat lagi mengompensasi dan tidak dapat melanjutkan metabolisme [31].

#### 4. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian ini, ekstrak etanol daun sirsak dosis 500 dan 1000 mg/kg bb tidak menimbulkan efek toksik. Dosis yang lebih tinggi yaitu 1500 dan dosis 2000 mg/kg bb menimbulkan gejala toksik berupa lemas, tremor, salivasi, urinasi dan diare pada mencit jantan dan betina dan termasuk kategori toksik ringan dengan nilai  $\text{LD}_{50}$  pada mencit 1819 mg/kg bb. Ekstrak etanol daun sirsak tidak berpengaruh terhadap berat badan mencit jantan dan betina. Selanjutnya, ekstrak etanol daun sirsak dosis 1500 dan 2000 mg/kg bb menyebabkan degenerasi hidrofik dan pembesaran glomerulus.

#### Ucapan Terima Kasih

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Prof. Dr. Syafruddin Ilyas, M.Biomed. atas persetujuan etik penelitian, Dr. Erti Sartina Siregar, S.Si., M.Si. atas identifikasi tanaman, Pimpinan dan staf laboratorium Biologi Farmasi, Farmakologi Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Sumatera Utara. Pimpinan dan staf Bagian Histopatologi Kedokteran, Fakultas Kedokteran, Universitas Sumatera Utara, Pimpinan dan staf Laboratorium Patologi Anatomi Rumah Sakit Vina Estetica, Medan, Sumatera Utara atas fasilitas dan bimbingan terkait penelitian ini.

#### Konflik Kepentingan

Penulis menyatakan bahwa tidak ada konflik kepentingan.

#### Daftar Pustaka

- [1] Mardiana L, Ratnasari J. Ramuan dan khasiat sirsak. Penebar Swadaya Grup; 2011.
- [2] Zuhud E.A.M. Bukti kedahsyatan: sirsak menumpas kanker. AgroMedia; 2011.
- [3] Adedapo, A. A., Oni, O. A., Falayi, O. O., Ogunmiluyi, I. O., Ogunpolu, B. S., Omobowale, T. O., ... & Yakubu, M. A. (2022). *Annona muricata* mitigates glycerol-induced nephrotoxicities in male albino rats through signaling pathways of angiotensin conversion enzyme, kidney injury molecule-1, and antioxidant properties. *Scientific African*, 16, e01225.
- [4] Zeweil, M. M., Khafaga, A. F., Mahmoud, S. F., Wasef, L., Saleh, H., Elrehim, A. M. A., ... & Ghoneim, H. A. (2024). *Annona muricata* L. extract restores renal function, oxidative stress, immunohistochemical structure, and gene expression of  $\text{TNF-}\alpha$ ,  $\text{IL-}\beta$ 1, and CYP2E1 in the kidney of DMBA-intoxicated rats. *Frontiers in Pharmacology*, 15, 1348145.
- [5] Dewi LK, Widyarti S. Pengaruh pemberian ekstrak Etanol daun Sirsak (*Annona muricata* Linn.) terhadap peningkatan jumlah sel T  $\text{CD4}^+$  dan  $\text{CD8}^+$  pada Timus Mencit (*Mus musculus*). *Biotropika: Journal of Tropical Biology*. 2013 May 1;1(1):24-6.

- [6] Pandaleke SS, de Queljoe E, Abdullah SS. Uji Efektivitas Ekstrak Etanol Daun Sirsak (*Annona muricata* L.) Untuk Menurunkan Kadar Gula Darah Tikus Putih Jantan (*Rattus norvegicus*) Yang Diinduksi Aloksan. *Pharmacon*. 2022 Feb 24;11(1):1321-7.
- [7] Rahmawati R, Rahman S, Mustari M. Uji Efek Antiinflamasi Ekstrak Etanol Daun Sirsak (*Annona muricata* Linn.) Terhadap Mencit (*Mus musculus*) Jantan Yang Diinduksi Dengan Karagen. *As-Syifaa Jurnal Farmasi*. 2012 Jul 1;4(1):7-15.
- [8] Tayeb R, Ubyaan M, Usmar U. Uji Efek Pemberian Ekstrak Etanol Daun Sirsak (*Annona muricata* L.) terhadap Kadar Asam Urat pada Tikus Putih (*Rattus norvegicus*). In *Proceeding of Mulawarman Pharmaceuticals Conferences 2016* Apr 26 (Vol. 3, pp. 367-373).
- [9] Florencia E, Ginting B. Uji Efek Ekstrak Etanol Daun Sirsak (*Annona Muricata* L.) Terhadap Penurunan Kadar Kolesterol Pada Kelinci Dengan Atorvastatin Sebagai Pembanding. *Politeknik Kesehatan Medan*. 2022.
- [10] Sari, Sudarmi, Patilaya P. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Sirsak Muda dan Tua (*Annona muricata* L.) Terhadap *Staphylococcus aureus* (Skripsi). Medan: Fakultas Farmasi Universitas Sumatera Utara. 2018.
- [11] Casarett LJ. *Casarett and Doull's toxicology: The basic science of poisons*. New York: McGraw-Hill; 2008.
- [12] Lu FC, Toksikologi Dasar: Asas, Organ Sasaran, dan Penilaian Risiko. Diterjemahkan oleh Nugroho E, Bustami ZS, dan Darmansjah I. Edisi Kedua. Jakarta: UI Press. 1994.
- [13] Priyanto SH. Toksikologi mekanisme, terapi antidotum dan penilaian risiko. Yogyakarta: Leskonfi. 2009.
- [14] Robbins dan Cotran. *Pathology Basic of Disease*. Edisi Ketujuh. New York: Elsevier, Inc. 2009. Halaman 977-981.
- [15] World Health Organization (WHO). *Quality control methods for medicinal plant materials*. World Health Organization; 1998.
- [16] DepKes RI. *Materia Medika Indonesia Jilid VI*, Cetakan Keenam. Jakarta: Direktorat Jenderal Pengawasan Obat Dan Makanan. 1995:92-4.
- [17] Reed LJ, Muench H. A simple method of estimating fifty percent endpoints. *American journal of epidemiology*. 1938 May 1;27(3):493-7.
- [18] Angelina M, Hartati S, Dewijanti ID, Banjarnahor SD, Meilawati L. Penentuan LD<sub>50</sub> Daun Cinco (*Cyclea barbata* Miers.) pada Mencit. *Makara Journal of Science*. 2010 Oct 14.
- [19] Organization for economic cooperation and development (OECD). *Guidelines for the Testing of Chemicals, OECD 407. Acute Oral Toxicity-Acute Toxic Class Method*.
- [20] Lu FC, Toksikologi dasar: asas, organ sasaran, dan penilaian resiko. Edisi II. Jakarta. UIP. 1995. Hal. 85-86, 206-220.
- [21] Ditjen POM, Depkes RI. *Parameter standar umum ekstrak tumbuhan obat*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 2000:10-5.
- [22] Depkes RI. *Pedoman pelaksanaan uji klinik obat tradisional*. Jakarta: DepKes RI, DitJen POM, Direktorat Pengawasan Obat Tradisional. 2000.
- [23] Rahman, Friska Ani, Tetiana Haniastuti, and Trianna Wahyu Utami. "Skrining fitokimia dan aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun sirsak (*Annona muricata* L.) pada *Streptococcus mutans* ATCC 35668." *Majalah Kedokteran Gigi Indonesia* 3.1 (2017): 1-7.
- [24] Lazarovici P, Laberbourn-Galski H. *Chimeric tocin. Mechanisms of actions and therapeutic applications*. New York: CRC Press. 2002.
- [25] Syamsuni dan Darmono. *Buku ajar farmakologi experimental*. Jakarta: UI Press. 2011. Hal. 46.
- [26] Ditjen POM, Depkes RI. *Pedoman Uji Toksisitas Nonklinik Secara In Vivo*. 2014.
- [27] Bhardwaj S, Gupta D. Study of acute, sub-acute and chronic toxicity test. *International Journal of Advanced Research in Pharmaceutical & Bio Sciences*. 2012 Apr 1;1(3):103-30.
- [28] Ar Razi F, Uji Toksisitas Akut Ekstrak Etanol Bunga Pepaya Jantan (*Carica papaya* L.) pada Mencit Jantan (Skripsi). Medan: Fakultas Farmasi Universitas Sumatera Utara. 2014.
- [29] Anggraini DR, *Gambaran makroskopik hati dan ginjal mencit akibat pemberian plum asetat (Tesis)*. Medan: Sekolah Pascasarjana Universitas Sumatera Utara. 2008.
- [30] Setiati N. Pemberian Ekstrak Benalu Mangga terhadap Perubahan Histologis Hepar Tikus yang Diinduksi Kodein. *Biosaintifika: Journal of Biology & Biology Education*. 2014;6(2):80-6.
- [31] Juhryyah, S. *Gambaran Histopatologi Organ Hati dan Ginjal Tikus Intoksikasi Akut Insektisida (Metofluthrin, D-Phenothrin, D-Allethrin) dengan Dosis Bertingkat (Skripsi)*. Bogor: Fakultas Kedokteran Hewan Institut Pertanian Bogor; 2008.