

Uji Toksisitas Akut Sediaan SNEDDS Pentagamavunon-0 pada Mencit Betina BALB/c

Acute Toxicity Test of SNEDDS Pentagamavunon-0 in Female BALB/c Mice

Ilham Perdana^{1*}, Nunung Yuniarti², Ika Puspitasri²

¹ Magister Ilmu Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Gadjah Mada

² Departemen Farmakologi dan Farmasi Klinik, Fakultas Farmasi, Universitas Gadjah Mada

Corresponding author: Ilham Perdana | Email: ilhamdana27@gmail.com

Submitted: 24-07-2024

Revised: 29-07-2024

Accepted: 29-07-2024

ABSTRAK

Pentagamavunon-0 (PGV-0) merupakan senyawa turunan kurkumin yang dikembangkan dalam bentuk sediaan *Self-Nanoemulsifying Drug Delivery System* (SNEDDS) dan memiliki aktivitas farmakologi terhadap *brain disorder* yang hingga saat ini belum terdapat data ilmiah mengenai tingkat keamanannya. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui klasifikasi toksisitas SNEDDS PGV-0 berdasarkan parameter gejala toksisitas, perubahan berat badan dan nilai LD₅₀. Penelitian dilakukan menggunakan prosedur uji sesuai OECD *Test Guidelines 420 Fix-dose Procedure*. Hewan uji yang digunakan pada penelitian ini adalah 10 mencit betina BALB/c dengan masing-masing kelompok terdiri dari 5 ekor mencit. Kelompok kontrol diberi perlakuan senyawa pembawa SNEDDS dan kelompok perlakuan menggunakan SNEDDS PGV-0. Dosis awal SNEDDS PGV-0 digunakan sebesar 300 mg/kgBB dan dilanjutkan untuk uji utama. Hasil penelitian menunjukkan adanya gejala toksisitas yang muncul pada pemberian SNEDDS PGV-0 berupa gatal, percepatan nafas, mengantuk hingga kematian. Terjadi kenaikan berat badan pada hewan uji, tetapi bukan perubahan berat badan yang bermakna ($p>0,05$). Penentuan nilai LD₅₀ *cut off* sebesar 300 mg/kgBB dengan kategori toksisitas 4.

Kata kunci: PGV-0; SNEDDS; toksisitas akut oral; LD₅₀

ABSTRACT

Pentagamavunon-0 (PGV-0) is a curcumin derivative compound which was developed in the Self-Nanoemulsifying Drug Delivery System (SNEDDS) dosage form and has pharmacological activity against brain disorders for which currently there is no scientific data regarding its safety level. This study aims to determine the toxicity classification of SNEDDS PGV-0 based on toxicity symptoms, changes in body weight and LD₅₀ value. The research used test procedures according to OECD Test Guidelines 420 Fix-dose Procedure. The test animals used in this study were 10 female Balb/C mice, each group comprising 5 mice. The control group was treated with SNEDDS carrier compound, and the treatment group was treated with SNEDDS PGV-0. The initial dose of SNEDDS PGV-0 was 300 mg/kgBW and continued for the primary test. The results of the study showed that there were symptoms of toxicity that appeared when administering SNEDDS PGV-0 in the form of itching, accelerated breathing, drowsiness and even death. There was an increase in body weight in the test animals but not a significant change in body weight ($p>0.05$). Determination of the LD₅₀ cut-off value of 300 mg/kgBW with toxicity category 4.

Keywords: PGV-0; SNEDDS; Acute Oral Toxicity; LD₅₀

PENDAHULUAN

Senyawa Pentagamavunon-0 (PGV-0) merupakan salah satu senyawa modifikasi kurkumin dengan merubah gugus diketon pada kurkumin menjadi siklopentanon (Warsi et al., 2018). Kelarutan dalam air yang rendah menyebabkan bioavailabilitas yang rendah senyawa Pentagamavunon-0 dan memungkinkan efek farmakologis dari senyawa ini tidak akan tercapai. Pengembangan formulasi Pentagamavunon-0 dengan pendekatan formulasi nanoemulsi *Self-Nanoemulsifying Drug Delivery Systems* (SNEDDS) dapat memperbaiki disolusi dari senyawa

Pentagamavunon-0 dan mampu meningkatkan aktivitas anti-inflamasinya (Astuti, 2018). Modifikasi SNEDDS PGV-0 merupakan salah satu solusi penghantaran PGV-0 sebagai *brain disorder agent*.

Penelitian yang dilakukan oleh Yuniarti et al. (2017) menunjukkan bahwa SNEDDS PGV-0 mampu memicu peningkatan *learning and memory*, memperbaiki *social interaction* serta menurunkan kecemasan pada mencit secara *in vivo* pada dosis 20 dan 40 mg/kgBB. Penelitian secara *in vitro* menunjukkan bahwa pemberian SNEDDS PGV-0 dosis 20 dan 40 selama 21 hari secara peroral mampu mengembalikan ekspresi gen *Hda2* ke level normal serta meningkatkan ekspresi gen *Bdnf* yang berperan penting dalam proses neurogenesis (Samor, 2022). SNEDDS PGV-0 mampu memperbaiki defisit kognitif dan memori pada mencit dengan gejala mirip dengan penyakit Alzheimer akibat induksi Monosodium Glutamate melalui pemulihan ekspresi gen *dcx* dan *Hes5* (Anas et al., 2024).

Aspek keamanan suatu sediaan senyawa menjadi aspek yang penting diketahui dalam pengembangan obat selain aktivitas farmakologinya. Persyaratan adanya data keamanan suatu obat di Indonesia telah diatur melalui peraturan kepala BPOM nomor 24 tahun 2017 yang harus dibuktikan melalui uji nonklinis dan uji klinik. Sejauh ini belum ditemukan penelitian mengenai tingkat keamanan SNEDDS PGV-0. Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk mengetahui potensi tingkat ketoksikan dari sediaan SNEDDS PGV-0 yang digambarkan dengan nilai LD₅₀. Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi awal mengenai tingkat keamanan SNEDDS PGV-0, sehingga dapat digunakan untuk menjadi acuan pengembangan formulasi dan penelitian mengenai aktivitas farmakologis SNEDDS PGV-0 yang lebih mendalam dengan mempertimbangkan dosis yang digunakan sesuai dengan keamanannya.

METODE

Penelitian merupakan penelitian dengan desain penelitian eksperimental laboratorium yang dilaksanakan di Departemen Farmakologi dan Farmasi Klinik Fakultas Farmasi Universitas Gadjah Mada selama 14 hari. Uji Toksisitas dilakukan menggunakan hewan uji mencit betina BALB/c sejumlah berusia 6-8 minggu dengan rentang berat badan 20 – 30 mg. Sediaan SNEDDS PGV-0 diperoleh dari formulasi isolat PGV-0 yang dilakukan oleh apt. Yance Anas,M.Si dengan senyawa pembawa Mygliol, Tween 80 dan PEG 400. Prosedur uji toksisitas akut mengacu pada prosedur *OECD Test Guideline 420*.

Pengelompokan Hewan Uji

Hewan uji dikelompokkan secara acak kedalam kelompok kontrol dan kelompok perlakuan SNEDDS PGV-0 masing-masing terdiri dari 5 ekor hewan uji. Penentuan dosis perlakuan uji utama ditentukan berdasarkan hasil uji pendahuluan. Hewan uji di aklimatisasi selama 7 hari sebelum dilakukan perlakuan dengan pemberian pakan dan minum secara *ad libitum*.

Uji Pendahuluan

Uji pendahuluan dilakukan menggunakan 1 ekor hewan uji untuk menentukan dosis yang digunakan untuk uji utama. Sediaan SNEDDS PGV-0 dosis 300 mg/kgBB diberikan secara peroral pada mencit untuk uji pendahuluan. Pengamatan gejala toksisitas dilakukan selama 24 jam pada hewan uji yang telah diberikan SNEDDS PGV-0 300 mg/kgBB (OECD, 2002).

Uji Utama

Uji utama dilakukan pada kelompok kontrol dan kelompok perlakuan SNEDDS PGV-0. Pemberian senyawa pembawa SNEDDS (mygliol, Tween 80 dan PEG400) diberikan secara peroral pada hewan uji kelompok kontrol. Sediaan SNEDDS PGV-0 dosis 300 mg/kgBB diberikan pada hewan uji kelompok perlakuan yang diberikan dengan dosis tunggal. Pengamatan gejala toksisitas dilakukan pada kelompok kontrol dan kelompok perlakuan SNEDDS PGV-0 300 mg/kgBB selama 14 hari (OECD, 2002).

HASIL DAN PEMBAHASAN

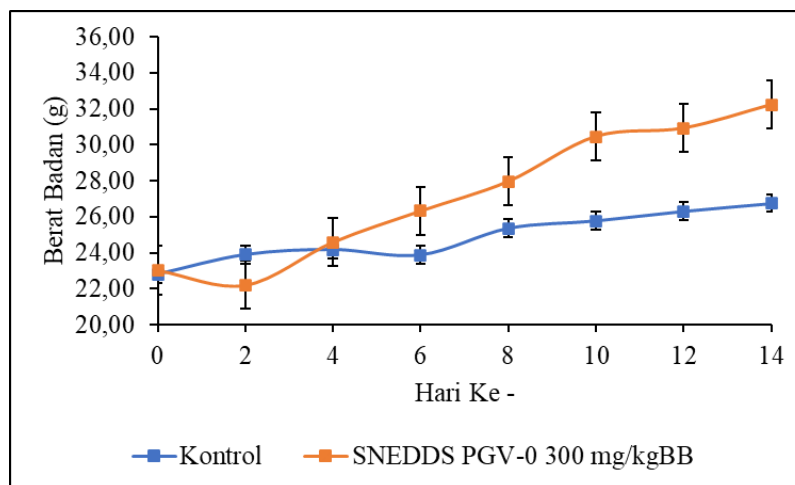
Toksikologi merupakan ilmu yang mempelajari efek merugikan baik secara langsung atau tidak langsung oleh zat biologis, bahan kimia, fisik, genetik atau psikologis pada organisme hidup dan

sistem biologi lainnya. Ilmu toksikologi memiliki peran penting dalam pengembangan senyawa kimia yang dikembangkan sebagai sediaan obat. Hal terpenting dalam mempelajari tingkat toksisitas suatu sediaan/senyawa merupakan langkah untuk melindungi manusia dari paparan zat berbahaya berdasarkan pada tingkat batas keamanan yang sesuai dengan sasaran toksikologi (Lee & Kacew, 2018). Uji toksisitas adalah uji yang dilakukan untuk mendeteksi ada atau tidaknya efek toksik dari sediaan uji baik secara peroral, teratogenesis dan transdermal (BPOM RI, 2022). Uji toksisitas dipilih berdasarkan tujuan penggunaan sediaan uji, lama penggunaan, dan kemungkinan terjadinya risiko akibat paparan sediaan tersebut pada manusia. Uji toksisitas akut oral bertujuan mendeteksi efek toksisitas intrinsik suatu zat dalam waktu yang singkat setelah pemberian sediaan uji secara oral dalam dosis tunggal atau berulang dalam waktu 24 jam. Luaran uji toksisitas akut berupa gejala toksisitas dan nilai LD₅₀ dari suatu sediaan. LD₅₀ mengacu pada dosis oral tunggal yang diperkirakan menyebabkan kematian pada 50% hewan uji dan dinyatakan dalam miligram senyawa per kilogram berat badan hewan (mg/kg). Senyawa dengan LD₅₀ oral sebesar 0–50 mg/kg dianggap sangat toksik, sedangkan senyawa dengan LD₅₀ lebih besar dari 2000 mg/kg dianggap memiliki toksisitas rendah (Morris-Schaffer & McCoy, 2021).

Uji toksisitas akut pada penelitian ini diawali dengan uji pendahuluan dengan dosis awal pemejanaan SNEDDS PGV-0 sebesar 300 mg/kgBB. Pemilihan dosis 300 mg/kgBB berdasarkan pernyataan pedoman OECD *Test Guidelines 420* yang menyatakan penggunaan dosis 300 mg/kgBB dapat digunakan jika tidak terdapat informasi profil keamanan secara invitro dan invivo pada senyawa yang memiliki kesamaan secara kimiawi dan struktur dengan senyawa uji. Saat ini belum ada penelitian yang membahas mengenai profil toksisitas pada senyawa PGV-0 maupun senyawa dengan karakteristik yang mirip dengan PGV-0. Hewan uji yang telah dilakukan pemejanaan SNEDDS PGV-0 pada uji pendahuluan dilakukan pengamatan gejala toksisitas dan kematian secara intensif setiap 30 menit pada 4 jam pertama dan dilanjutkan hingga 24 jam. Gejala toksisitas yang diamati adalah perubahan perilaku hewan uji dari kondisi normal yang meliputi rasa gatal yang ditandai dengan menggaruk badan, kondisi merinding, bulu rontok, kondisi nafas, mengantuk dan kebingungan hingga kematian. Evaluasi intensif pada uji pendahuluan menunjukkan adanya tanda toksisitas berupa percepatan nafas, gatal dan mengantuk. Tidak ditemukan adanya kematian hewan uji pada uji pendahuluan. Hasil pengamatan kelompok kontrol menunjukkan adanya tanda toksisitas berupa mengantuk dan gatal, tetapi tidak ditemukan adanya percepatan nafas dan kematian. Berdasarkan adanya kemunculan tanda toksisitas tersebut maka ditetapkan dosis pada uji utama sebesar 300 mg/kgBB.

Pemejanaan SNEDDS PGV-0 dosis 300 mg/kgBB dilakukan pada uji utama dengan dosis tunggal. Pengamatan gejala toksisitas dan tingkat secara intensif dilakukan setiap 30 menit setiap 4 jam dan dilanjutkan sampai hari ke 14 setelah pemejanaan. Hasil pengamatan gejala toksisitas dapat dilihat pada tabel I dan kondisi kematian hewan uji pada tabel II. Pengamatan gejala toksisitas dilakukan dialami oleh sebagian besar hewan uji pada minggu pertama setelah pemberian SNEDDS PGV-0. Sebagian besar hewan uji mengalami gejala gatal dan mengantuk. Pada kelompok perlakuan SNEDDS PGV-0 ditemukan adanya percepatan nafas yang terjadi pada 1 ekor hewan uji. Gatal ditandai dengan kondisi menggaruk tubuh hewan uji menggunakan kaki bagian belakang. Kondisi gejala toksisitas terdapat penurunan memasuki minggu kedua pengamatan. Terdapat hewan uji kelompok SNEDDS PGV-0 yang ditemukan mati pada hari ke-2. Tidak ditemukan adanya gejala toksitas yang berarti pada kelompok kontrol yang ditunjukkan dari adanya perilaku gatal dan mengantuk yang terjadi pada sebagian kecil hewan uji.

Selanjutnya pengamatan berat badan dilakukan untuk mengetahui perkembangan perubahan berat badan hewan uji. Penurunan berat badan merupakan salah satu tanda awal yang cukup sensitif dan sederhana untuk menunjukkan gejala toksisitas (Lee & Kacew, 2018). Penurunan berat badan merupakan salah satu tanda terjadinya anoreksia yang menunjukkan adanya gangguan pada lambung (Sembiring et al., 2017). Rata-rata berat badan perhari menunjukkan adanya penurunan rata-rata berat badan kelompok SNEDDS PGV-0 300 mg/kgBB pada hari ke-2, penurunan berat badan ini menunjukkan adanya dugaan terjadi gangguan lambung pada kelompok ini hingga menyebabkan kematian. Hewan uji yang mendapatkan dosis tinggi pada umumnya terjadi penurunan berat badan yang disebabkan oleh penurunan nafsu makan (Thaib et al., 2022). Penggunaan miglyol secara berulang menghasilkan efek gastrointestinal yang reversibel yang



Gambar 1. Grafik rata - rata kenaikan berat badan mencit per hari pada uji toksisitas akut (n=5)

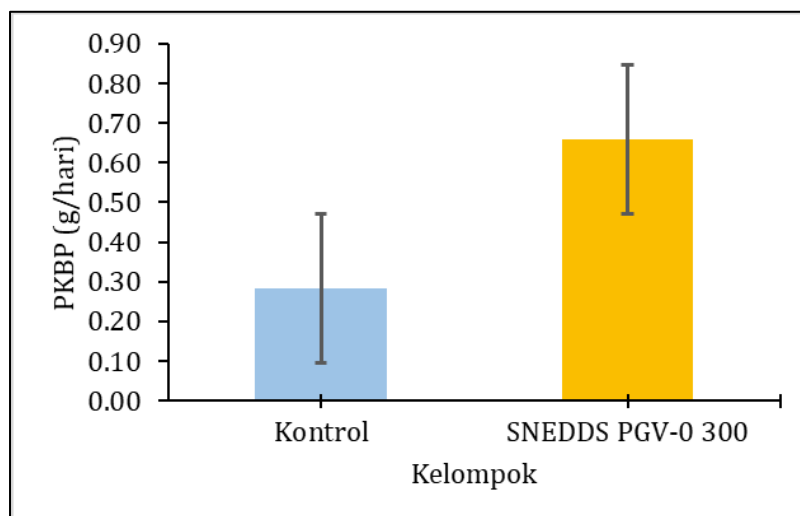
Tabel I. Pengamatan Gejala Toksisitas selama 14 hari (n=10)

Gejala Toksisitas	Hari ke -													
	1 %	2 %	3 %	4 %	5 %	6 %	7 %	8 %	9 %	10 %	11 %	12 %	13 %	14 %
Kelompok Kontrol														
Menggaruk	-	20	-	-	-	-	-	20	-	-	20	-	-	-
Takipnea	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Sedatif	20	-	20	20	20	20	-	-	-	-	40	-	-	20
Kematian	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Kelompok SNEDDS PGV-0														
Menggaruk	40	-	60	40	20	20	-	-	-	-	60	-	-	-
Takipnea	20	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Sedatif	100	-	60	60	80	-	40	60	20	-	-	-	-	-
Kematian	-	20	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Tabel II. Kondisi Kematian Hewan Uji

Kelompok	Jenis Uji	Mencit ke -	Kematian
Kontrol	Uji Pendahuluan	1	Hidup
		2	Hidup
	Uji Utama	3	Hidup
		4	Hidup
		5	Hidup
SNEDDS PGV-0 300 mg/kgBB	Uji Pendahuluan	1	Hidup
		2	Hidup
	Uji Utama	3	Mati
		4	Hidup
		5	Hidup

menyebabkan penurunan berat badan (Sellers et al., 2005). Data perkembangan perubahan berat badan dianalisis kedalam bentuk Purata kenaikan berat badan perhari dan disajikan dalam bentuk histogram pada gambar 1 dan nilai purata kenaikan berat badan perhari pada tabel III. Purata kenaikan berat badan perhari dianalisis untuk mengetahui perubahan berat badan yang terjadi sebelum perlakuan sampai hari ke 14 pengamatan. Kedua kelompok pada uji ini mengalami kenaikan berat badan pada akhir pengamatan. Kenaikan berat badan yang terjadi pada kelompok kontrol



Gambar 2. Histogram Purata Kenaikan Berat Badan Perhari Mencit selama 14 hari setelah pemberian SNEDDS PGV-0 (n=5)

Tabel III. Purata Kenaikan Berat Badan selama 14 hari

Kelompok	$\bar{x} \pm SE$ (gram)	Sig.
Kontrol	0,28 ± 0,099	0,153
SNEDDS PGV-0 300 mg/kgBB	0,63 ± 0,120	

sedikit lebih rendah jika dibandingkan dengan kelompok SNEDDS PGV-0. Hasil analisis statistik menunjukkan tidak adanya perubahan yang bermakna purata kenaikan berat badan perhari dengan nilai sig ($p > 0,05$).

Penentuan nilai LD50 berdasarkan klasifikasi toksisitas menurut Globally Harmonised Classification System (GHS) berdasarkan tingkat kematian hewan uji. Nilai LD50 pada uji toksisitas akut bermanfaat untuk dasar penelitian mengenai toksisitas selanjutnya seperti uji toksisitas subkronis dan uji toksisitas kronis (Lee & Kacew, 2018). Keterbatasan pada penelitian uji toksisitas ini adalah tidak dilakukannya pengamatan histopatologi. Pengamatan histopatologi sangat penting untuk mengetahui faktor penyebab kematian akibat toksisitas intrinsik suatu zat di tingkat seluler pada organ vital hewan uji untuk dapat diketahui secara spesifik penyebab kematian.

KESIMPULAN

Pemberian SNEDDS PGV-0 300 mg/kgBB menunjukkan adanya toksisitas yang ditandai dengan gejala toksisitas seperti percepatan nafas dan kematian. Nilai LD50 SNEDDS PGV-0 ditentukan sebesar 300 mg/kgBB dan masuk kedalam kategori 4 berdasarkan klasifikasi toksisitas menurut GHS. Perubahan berat badan memiliki kecenderungan kenaikan akibat pemberian SNEDDS PGV-0. Beberapa parameter uji perlu dilakukan pengamatan untuk memastikan penyebab ketoksikan SNEDDS PGV-0 meliputi konsumsi pakan hewan uji, pengamatan gross patologi dan histopatologi.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan rasa terimakasih yang sebesar-besarnya kepada bapak Yance Anas yang telah bersedia memberikan izin penggunaan isolat PGV-0 dalam penelitian ini dan bapak Panji Pranata atas bimbingan teknis dan dukungannya selama menjalankan penelitian di Laboratorium Farmakologi Departemen Farmakologi dan Farmasi Klinik Fakultas Farmasi Universitas Gadjah Mada.

DAFTAR PUSTAKA

- Anas, Y., Susidarti, R. A., Martien, R., & Yuniarti, N. (2024). *Effect of SNEDDS Loading Pentagamavunon-0 on Memory Impairment and Neurogenesis in Mice with Monosodium Glutamate-Induced Alzheimer's Disease-Like Symptoms*. <https://doi.org/10.1101/2024.05.17.594779>
- Astuti, I. Y. (2018). *Optimasi Formula dan Studi Aktivitas Antiinflamasi Self-Nanoemulsifying Drug Delivery System (SNEDDS) Pentagamavunon-0 (PGV-0)* [Disertasi]. Universitas Gadjah Mada.
- BPOM RI. (2022). *Peraturan Badan Pengawas Obat dan Makanan Nomor 10 Tahun 2022 tentang Pedoman Uji Toksisitas Praklinik Secara In Vivo*.
- Lee, B.-M., & Kacew, S. (2018). *Lu's Basic Toxicology*.
- Morris-Schaffer, K., & McCoy, M. J. (2021). A Review of the LD₅₀ and Its Current Role in Hazard Communication. *ACS Chemical Health & Safety*, 28(1), 25–33. <https://doi.org/10.1021/acs.chas.0c00096>
- OECD. (2002). *Test No. 420: Acute Oral Toxicity - Fixed Dose Procedure*. OECD. <https://doi.org/10.1787/9789264070943-en>
- Samor, V. (2022). *Pengaruh Pemberian Nanoemulsi Pentagamavunon-0 terhadap Ekspresi Gen Histone Deacetylase 2, Gen Bdnf, Gen Neurogenesis dan Gliogenesis pada Mencit Model Brain Disorder serta Karakterisasinya*. Universitas Gadjah Mada.
- Sellers, R. S., Antman, M., Phillips, J., Khan, K. N., & Furst, S. M. (2005). Effects of Miglyol 812 on Rats After 4 Weeks of Gavage as Compared with Methylcellulose/Tween 80. *Drug and Chemical Toxicology*, 28(4), 423–432. <https://doi.org/10.1080/01480540500262839>
- Sembiring, R., Kairupan, C., & Loho, L. L. (2017). Gambaran histopatologik lambung tikus Wistar (*Rattus norvegicus*) yang diberi sari buah nenas (*Ananas comosus* (L.) Merr) setelah induksi asam mefenamat. *Jurnal e-Biomedik*, 5(1). <https://doi.org/10.35790/ebm.5.1.2017.14943>
- Thaib, K. M., Simbala, H. E. I., & Antasionasti, I. (2022). *UJI TOKSISITAS AKUT KOMBINASI EKSTRAK BAWANG DAYAK (Eleutherine americana Merr.) DAN PINANG YAKI (Areca vestiaria Giseke) TERHADAP ORGAN PARU-PARU TIKUS PUTIH JANTAN GALUR WISTAR (Rattus norvegicus)*. 11.
- Warsi, W., Sardjiman, S., & Riyanto, S. (2018). *Synthesis and Antioxidant Activity of Curcumin Analogues*.
- Yuniarti, N., Nurrochmad, A., & Istyastono, E. P. (2017). *Elusidasi Mekanisme Molekular Kurkumin dan Dietary Compound Lain sebagai Brain Disorder Treatment Agents Baru Melalui Uji Aktivitas In silico, In vitro dan In vivo pada Target Enzim Histone Deasetilase* (Laporan Akhir Penelitian Hibah Kompetensi Tahun Ke-3). Ristek Dikti.