

Toksistas Akut Ekstrak Etanol Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.) Iradiasi yang Mempunyai Aktivitas Antikanker

The Acute Toxicity of Ethanol Extract from Irradiated Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.) Which Have Anticancer Activity

Ermin Katrin, Susanto dan Hendig Winarno

Pusat Aplikasi Teknologi Isotop dan Radiasi, BATAN
Jl. Lebak Bulus No. 49 Jakarta Selatan 12440
e-mail : erminkk@batan.go.id

Diterima 03 Maret 2011; Disetujui 19 April 2011

ABSTRAK

Toksistas Akut Ekstrak Etanol Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.) Iradiasi yang Mempunyai Aktivitas Antikanker. Pasteurisasi simplisia dan produk obat herbal telah dilakukan oleh beberapa perusahaan obat herbal, namun informasi tentang keamanan obat herbal yang diradiasi masih sedikit, bahkan pengaruh iradiasi gamma untuk tujuan pasteurisasi terhadap toksistas simplisia temulawak belum pernah diteliti. Ekstrak etanol temulawak mempunyai aktivitas berpotensi sebagai antikanker. Pada penelitian ini dilakukan uji toksistas akut ekstrak etanol dari rimpang temulawak yang tidak dan yang diradiasi dengan dosis 5 dan 10 kGy. Uji toksistas akut ekstrak etanol dilakukan pada mencit dengan mengamati pengaruh ekstrak terhadap perilaku hewan (profil farmakologi) setelah pemberian dosis tunggal bahan uji, perkembangan bobot badan hewan percobaan dan kematian setiap hari selama 14 hari serta pengamatan bobot beberapa organ pada hari ke-14. Hasil uji toksistas akut setelah pemberian ekstrak pada mencit jantan dan betina menunjukkan bahwa sampai dosis 7500 mg/kg bobot badan (BB) tidak ada kematian dan efek toksik yang bermakna, maka ekstrak etanol dari rimpang temulawak yang tidak dan yang diradiasi dengan dosis 5 dan 10 kGy dapat dinyatakan aman. Dengan demikian DL_{50} dari ekstrak etanol dari rimpang temulawak yang tidak dan yang diradiasi (5 dan 10 kGy) pada mencit lebih besar dari 7500 mg/kg BB.

Kata kunci : toksistas akut, *Curcuma xanthorrhiza* Roxb., ekstrak etanol, iradiasi, antikanker, DL_{50}

ABSTRACT

The Acute Toxicity of Ethanol Extract from Irradiated Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.) Which Have Anticancer Activity. Pasteurization of herbs and herbal medicinal products have been carried out by several herbal industries, but information about the safety of irradiated herbal medicine is still a little, even the influence of gamma irradiation for pasteurization purpose on the toxicity of crude temulawak has never been investigated. The ethanol extract of *Curcuma xanthorrhiza* Roxb. has cytotoxic activity which potential as an anticancer. In this research, the acute toxicity tests were carried out to the ethanol extract from *Curcuma xanthorrhiza* without irradiation and irradiated with doses of 5 and 10 kGy. The acute toxicity tests of ethanol extract were conducted in mice by observing the effect of extracts on animal behavior (pharmacologic profile) after a single dose of test material, the development of animal body weight and death every day for 14 days and observed several organ weights on day 14. Acute toxicity test results after administration of extracts on male and female mice a dose up to 7500 mg/kg body weight (BW) showed that no deaths and no significant toxic effect, so that the ethanol extract of *Curcuma xanthorrhiza* without irradiation and irradiated with doses of 5 and 10 kGy can be declared safe. Thus LD_{50} from

ethanol extract of *Curcuma xanthorrhiza* without irradiation and irradiated (5 and 10 kGy) in mice was greater than 7500 mg/kg body weight.

Key words : acute toxicity, *Curcuma xanthorrhiza* Roxb., ethanol extracts, irradiation, anticancer, LD₅₀

PENDAHULUAN

Hasil penelitian ilmiah telah membuktikan bahwa temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.) sangat berkhasiat, hal ini menyebabkan obat herbal berbasis temulawak berkembang sangat cepat dan banyak dibutuhkan oleh masyarakat. Kurkumin dan kurkumenol dalam temulawak mempunyai aktivitas sebagai antimikroba, antioksidan, dan hepatoprotektor (1,2). Ekstrak metanol *C. xanthorrhiza* mempunyai potensi sebagai pencegah kanker (3) dan xantorizol dapat menghambat proliferasi kanker payudara MCF-7 dengan nilai IC₅₀ 1,71 µg/ml (4).

Selama penyimpanan simplisia rimpang temulawak sangat rentan terhadap pertumbuhan mikroba. Untuk menjaga mutu obat herbal ini agar bebas dari pertumbuhan mikroba pencemar, maka dibutuhkan penanganan yang higienis melalui berbagai teknik pasteurisasi. Salah satu teknik pengawetan yaitu teknik iradiasi gamma telah dikembangkan di PATIR BATAN sejak tahun 1980 dan telah dimanfaatkan oleh beberapa perusahaan obat herbal untuk meradiasi bahan maupun produk obat herbal (5). Hasil penelitian menunjukkan bahwa iradiasi gamma dosis 10 kGy selain dapat menghambat pertunasan rimpang juga dapat menurunkan 2-4 log cycle mikroba pada simplisia rimpang temulawak, temu hitam, kunyit dan galanga (6). Iradiasi gamma dosis 10 kGy pada *Curcuma longa* tidak memengaruhi kadar minyak mudah menguap dalam kunyit (7) dan pada *Curcuma domestica* tidak mengubah kadar kurkumin (8). Ekstrak etanol dari rimpang temulawak yang diradiasi gamma dengan dosis 10 kGy tetap mempunyai aktivitas antikanker terhadap sel kanker HUT-78, A-549, Hela dan THP-1

dengan IC₅₀ < 30 µg/ml (9). Informasi tentang keamanan obat herbal yang diradiasi masih sedikit, bahkan pengaruh iradiasi gamma terhadap toksisitas simplisia temulawak belum pernah diteliti.

Pada penelitian ini dilakukan uji toksisitas akut untuk mempelajari derajat efek toksik ekstrak etanol dari temulawak yang diradiasi pada mencit yang terjadi dalam waktu singkat setelah pemberian dosis tunggal. Uji toksisitas akut menggunakan mencit untuk memastikan bahwa ekstrak dari temulawak yang tidak dan yang diradiasi tidak toksik. Uji toksisitas akut merupakan suatu uji keamanan dalam waktu singkat untuk mendeteksi adanya efek toksik dari suatu zat uji yang diberikan dalam dosis tunggal atau berulang dalam waktu 24 jam. Pengujian ini bertujuan untuk mempelajari keamanan ekstrak yang dihasilkan dari rimpang temulawak yang diradiasi melalui uji toksisitas akut secara oral pada hewan coba mencit putih galur Swiss-Webster dengan melakukan pengamatan berbagai efek farmakologik, perubahan bobot badan dan indeks profil indeks organ dalam.

Pada uji toksisitas akut akan diperoleh data tentang efek bahan yang diuji terhadap berbagai sistem dalam tubuh, termasuk juga perubahan tingkah laku, abnormalitas fungsi beberapa indeks organ atau gangguan fisiologis lainnya sampai dengan terjadinya kematian hewan percobaan. Hasil uji toksisitas akut akan memberikan gambaran tentang reaksi akut dari makhluk hidup bila diberi suatu bahan obat. Oleh karena itu, pada uji toksisitas akut selain penentuan nilai LD₅₀ diamati pula efek farmakologik, profil organ-dalam dan perubahan bobot badan hewan percobaan setiap hari selama 2 minggu sesuai dengan standar pengujian.

BAHAN DAN METODE

Bahan dan alat

Hewan Uji. Hewan uji adalah mencit galur *Swiss Webster* jantan dan betina, usia 2 bulan, bobot antara 22 - 36 g dari Pusat Ilmu Hayati ITB, Bandung.

Bahan. Bahan percobaan rimpang temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.) diperoleh dari BALITTRO, Bogor. Setelah dicuci bersih, diiris tipis-tipis dan dikeringkan dalam oven pada suhu 40°C dengan kadar air di bawah 10%, lalu dihaluskan menjadi serbuk. Bahan kimia yang digunakan yaitu etanol 99 %, air suling, dan natrium karboksi metil selulosa (Na CMC).

Alat. Alat-alat yang digunakan ialah mortir dan stamper, alat-alat gelas, sonde oral mencit, timbangan mencit, timbangan analitik, jarum oral, seperangkat alat uji toksistas, seperangkat alat bedah, serta alat lain yang umum digunakan untuk uji toksistas akut di Laboratorium Farmakologi-Toksikologi Pusat Ilmu Hayati, ITB.

Metode

Iradiasi dan Maserasi. Serbuk temulawak disiapkan dalam 3 kemasan yang masing-masing beratnya 1 kg. Masing-masing sampel dimasukkan ke dalam kantong plastik polietilen tebal 0,1 mm lalu diséal rapat dengan alat *sealer matic*. Sampel diiradiasi di Iradiator Karet Alam, PATIR, BATAN dengan sumber radiasi ^{60}Co (113,576 Ci), dosis masing-masing 5 dan 10 kGy pada laju dosis 7,5 kGy/jam.

Pembuatan Ekstrak. Masing-masing serbuk temulawak yang diradiasi dengan dosis 5, 10 kGy dan yang tidak diradiasi dimaserasi 4 kali dengan pelarut etanol masing-masing 3 L. Filtrat hasil penyaringan maserat dipekatkan menggunakan rotavapor vakuum pada suhu kurang lebih 37 °C hingga diperoleh ekstrak kental. Ekstrak selanjutnya dikeringkan menggunakan desikator vakum suhu 40°C hingga semua pelarut menguap dan ditimbang.

Uji Toksistas Akut. Mencit uji terlebih dahulu diaklimatisasi selama 1 minggu di laboratorium farmakologi Pusat Ilmu Hayati, dan hanya mencit sehat yang digunakan dalam percobaan. Sediaan uji adalah ekstrak etanol dari temulawak yang tidak diradiasi dan yang diradiasi 5 dan 10 kGy. Sediaan disuspensikan dalam CMCNa 0,5% dan dibuat dengan 5 tingkat serangkaian dosis uji yaitu 625 mg/kg BB (D1), 1250 mg/kg BB (D2), 2500 mg/kg BB (D3), 5000 mg/kg BB (D4) dan 7.500 mg/kg BB (D5), sedangkan kontrol normal hanya diberi larutan CMCNa 0,5%. Sediaan uji diberikan secara oral dalam dosis tunggal 1 ml per 20 g mencit, satu dosis per kelompok. Hewan coba dikelompokkan ke dalam 5 kelompok. Setiap kelompok terdiri dari 5 ekor jantan dan 5 ekor betina. Tiap kelompok terdiri dari 5 mencit jantan dan 5 mencit betina yang dikelompokkan secara acak. Kelompok kontrol (K) hanya diberi larutan pembawa yaitu Na-CMC 0,5%. Pengamatan terhadap efek-efek yang muncul dilakukan segera setelah pemberian sediaan uji selama 3 menit pada tiap jam dalam periode 4 jam pertama, kemudian diamati secara seksama efek-efek yang muncul yang meliputi efek terhadap sistem syaraf pusat, sistem saraf otonom, refleks, ritme pernapasan, perubahan dalam ekskresi, kondisi kulit dan mukosa, postur tubuh, kecepatan denyut jantung dan beberapa respon lainnya yang umum diamati pada uji toksistas akut (10,11). Perubahan bobot badan dan kematian mencit dipantau terus setiap hari sampai 14 hari (H1 sampai H14) setelah pemberian sediaan uji. Apabila ada mencit yang mati selama pengamatan, segera dibedah untuk menentukan sebab kematian. Pada hari ke 14, semua mencit dibunuh kemudian organ mencit ditimbang dan dihitung terhadap bobot badan mencit. Organ-organ yang diambil untuk pengamatan pada mencit jantan adalah hati, limpa, paru-paru, ginjal, jantung, vessikal seminalis dan testis sedangkan pada mencit betina organ yang diamati adalah hati, limpa, paru-paru, ginjal, jantung, ovarium dan uterus. Selain itu

pengamatan yang dilakukan adalah profil perubahan bobot badan mencit. Kebermaknaan data yang diperoleh diolah secara statistik menggunakan software SPSS 17, uji student-*t* dan anova.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pembuatan Ekstrak. Ekstrak kental hasil ekstraksi dengan cara maserasi dalam etanol diperoleh seberat 51 g (dari rimpang temulawak 0 kGy), 50 g (dari simplisia temulawak 5 kGy) dan 50 g (dari simplisia temulawak 10 kGy).

Profil aktivitas farmakologik setelah pemberian dosis tunggal ekstrak etanol dari rimpang temulawak. Profil aktivitas farmakologik mencit jantan setelah pemberian bahan uji (0, 5 dan 10 kGy) menunjukkan bahwa pada kelompok kontrol dan kelompok dosis uji terjadi perubahan aktivitas motorik, *ptosis*, *reestablishment*, jalan melingkar, *grooming*, *defekasi* dan *urinasi*. Setelah 30 menit semua kelompok dosis uji yang diberi ekstrak dari temulawak 0 kGy mengalami penurunan aktivitas motorik jika dibandingkan kelompok kontrol, demikian juga mencit jantan yang diberi ekstrak dari temulawak yang diradiasi 5 dan 10 kGy hampir semua kelompok mengalami penurunan aktivitas motorik jika dibandingkan kelompok kontrol.

Efek *ptosis* terjadi terutama pada dosis D3, D4 dan D5 yang diberi ekstrak temulawak 0 kGy. Pada pengujian *reestablishment*, pada D2, D3, D4 dan D5, minimal 20% dari populasi mengalami kehilangan kemampuan untuk memulihkan fisik posisi diri (*righting ability*). Efek *ptosis* terjadi terutama pada dosis D4 dan D5 yang diberi ekstrak temulawak 5 kGy. Pada pengujian *reestablishment*, pada D3, D4 dan D5, minimal 20% dari populasi mengalami kehilangan kemampuan untuk memulihkan fisik posisi diri. Pada mencit jantan yang diberi ekstrak temulawak dosis 10 kGy, efek *ptosis* terjadi terutama pada dosis D3, D4 dan D5. Pada pengujian *reestablishment*, pada

D4 dan D5, minimal 20% dari populasi mengalami kehilangan kemampuan untuk memulihkan fisik posisi diri.

Profil aktivitas farmakologik mencit betina menunjukkan bahwa pada kelompok kontrol dan kelompok dosis uji (yang diberi ekstrak temulawak 0, 5 dan 10 kGy) terjadi perubahan aktivitas motorik, *fenomena straub*, *ptosis*, *reestablishment*, *grooming*, *defekasi* dan *urinasi*. Pada mencit betina yang diberi ekstrak temulawak 0 kGy terjadi penurunan aktivitas motorik pada kelompok kontrol setelah 60 menit pemberian CMC Na 0,5% sedangkan penurunan aktivitas motoris pada kelompok dosis uji terjadi setelah 30 menit pemberian dosis tunggal sediaan cair yang mengandung bahan uji. Fenomena *straub* terjadi hanya pada kelompok dosis uji D1, sedangkan *ptosis* terjadi pada kelompok dosis uji D4 dan D5, dan *reestablishment* hanya terjadi pada kelompok dosis uji D3 setelah 120 menit pemberian sediaan.

Pada mencit betina yang diberi ekstrak temulawak 5 kGy terjadi penurunan aktivitas motorik pada kelompok kontrol dan kelompok dosis uji D1 setelah 60 menit pemberian CMC Na 0,5% sedangkan penurunan aktivitas motoris pada kelompok dosis uji D2, D3, D4, dan D5 terjadi setelah 30 menit pemberian dosis tunggal sediaan cair yang mengandung bahan uji. Fenomena *straub* terjadi hanya pada kelompok dosis uji D1, sedangkan *ptosis* terjadi pada kelompok dosis uji D3, D4 dan D5, dan *reestablishment* hanya terjadi pada kelompok dosis uji D4 dan D5.

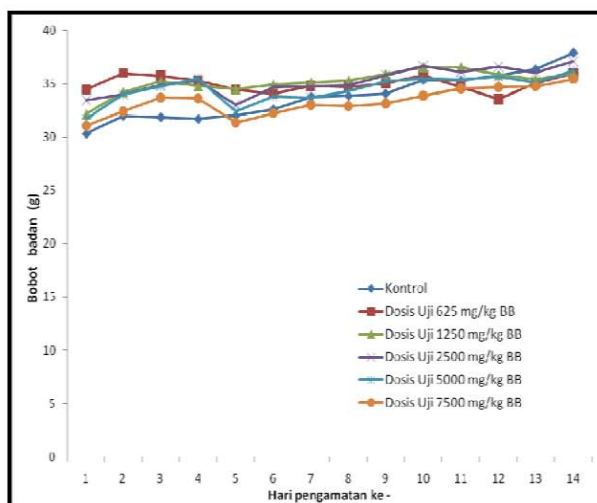
Pada mencit betina yang diberi ekstrak temulawak 10 kGy juga terjadi penurunan aktivitas motorik pada kelompok kontrol setelah 30 menit pemberian CMC Na 0,5% sedangkan penurunan aktivitas motoris pada kelompok dosis uji D1, D2, D3, D4, dan D5 terjadi setelah 30 menit pemberian dosis tunggal sediaan cair yang mengandung bahan uji. *Ptosis* terjadi pada semua kelompok dosis uji dan *reestablishment* hanya terjadi pada kelompok dosis uji D4 dan D5.

Dari pengamatan keseluruhan terlihat terjadi penurunan aktivitas motorik, dan

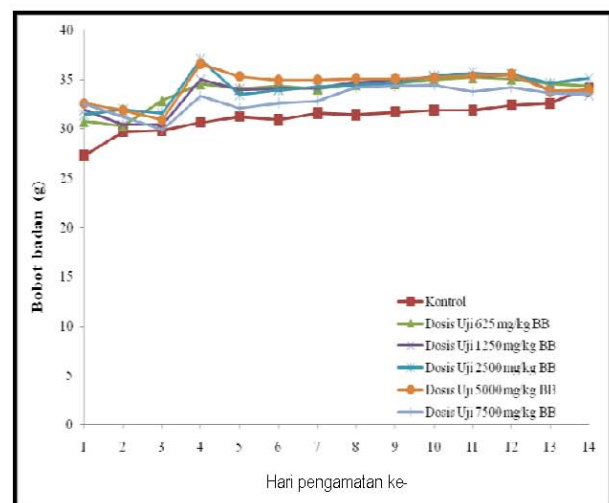
pengamatan pada fenomena *straub*, *ptosis* dan *reestablishment*, memberikan dugaan bahwa bahan uji baik ekstrak etanol dari temulawak yang tidak dan yang diradiasi mempunyai potensi neuroleptik. Pada kedua kelompok mencit uji (jantan dan betina), juga tidak ada mencit yang mati setelah pemberian dosis tunggal ekstrak etanol dari temulawak yang tidak dan yang diradiasi dosis 5 dan 10 kGy selama periode pengamatan.

Perubahan bobot mencit yang diberi ekstrak etanol dari rimpang temulawak yang tidak dan yang diradiasi 5 dan 10 kGy. Profil bobot badan mencit jantan dan betina yang diberi sediaan ekstrak etanol temulawak yang tidak diradiasi, diiradiasi 5 kGy dan diiradiasi 10 kGy tertera masing-masing pada Gambar 1, Gambar 2, dan Gambar 3. Secara visual, terjadi perubahan bobot badan mencit jantan dan mencit betina yang diberi ekstrak temulawak 0 kGy

dosis uji. Dari hasil analisis yang lebih terperinci menggunakan *student t-test*, secara keseluruhan menunjukkan tidak adanya perubahan yang bermakna ($p < 0,05$) antara kelompok kontrol dan kelompok dosis uji, kecuali pada H7, kelompok D3 dan pada H11 kelompok uji D1 menunjukkan persentase lebih rendah dan bermakna ($p < 0,05$) jika dibandingkan terhadap kenaikan bobot badan kelompok kontrol. Perubahan bobot badan mencit betina terlihat pada H2 sampai H5 menunjukkan adanya perubahan bermakna, sedangkan pada H6 sampai H14 menunjukkan tidak adanya perubahan yang bermakna ($p < 0,05$) antara kelompok kontrol dan kelompok dosis uji. Dari hasil analisis yang lebih terperinci menggunakan *student t-test*, pada H2, semua kelompok dosis uji menunjukkan perubahan bermakna ($p < 0,05$) jika dibandingkan kelompok kontrol; pada H3, hanya kelompok dosis uji D5 yang



(a)



(b)

Gambar 1. Bobot badan mencit jantan (a) dan betina (b) yang telah diberi sediaan mengandung ekstrak etanol temulawak yang tidak diradiasi gamma

pada kelompok kontrol dan semua kelompok dosis uji. Dari hasil analisis statistik perubahan bobot badan mencit jantan menggunakan ANOVA, terlihat tidak adanya perubahan yang bermakna ($p < 0,05$) antara kelompok kontrol dan kelompok

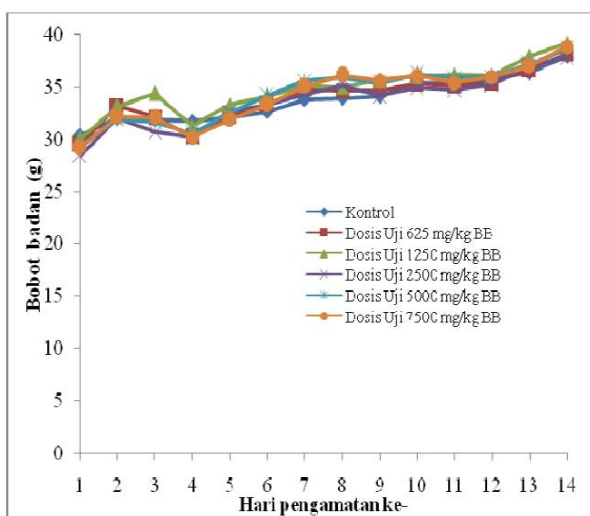
menunjukkan perubahan bermakna ($p < 0,05$) jika dibandingkan kelompok kontrol; pada H4, kelompok dosis uji D1, D2, D3 dan D4 menunjukkan perubahan bermakna ($p < 0,05$) jika dibandingkan kelompok kontrol; dan pada H5, kelompok

dosis uji D1, D2, dan D5 menunjukkan perubahan bermakna ($p < 0,05$) jika dibandingkan kelompok kontrol.

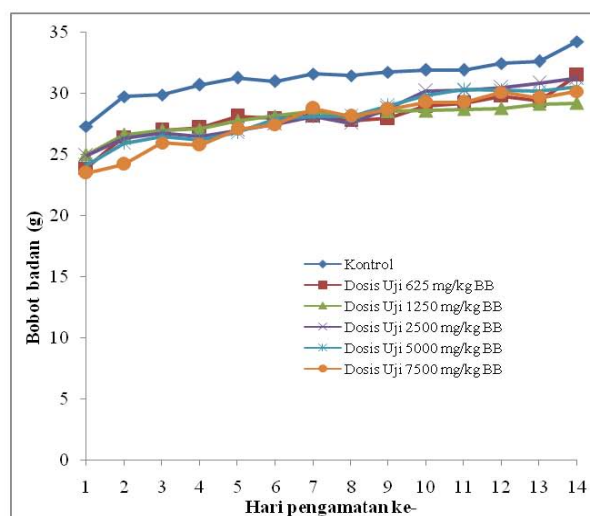
Profil bobot badan mencit jantan dan betina yang diberi sediaan ekstrak etanol temulawak yang diradiasi 5 kGy tertera pada Gambar 2. Secara visual perubahan bobot badan mencit jantan antara kelompok kontrol dan kelompok dosis uji tidak berbeda. Namun pada mencit betina (Gambar 2b), terjadi perbedaan secara nyata

terlihat tidak adanya perubahan yang bermakna ($p < 0,05$) antara kelompok kontrol dan kelompok dosis uji.

Profil bobot badan mencit jantan dan betina dapat dilihat pada Gambar 3a dan 3b. Secara visual, ada perubahan bobot badan mencit jantan antara kelompok kontrol dan kelompok dosis uji, terlihat bahwa perubahan bobot badan kelompok uji D1, D2 dan D4 di bawah kelompok kontrol. Pada bobot badan mencit betina kelompok



(a)

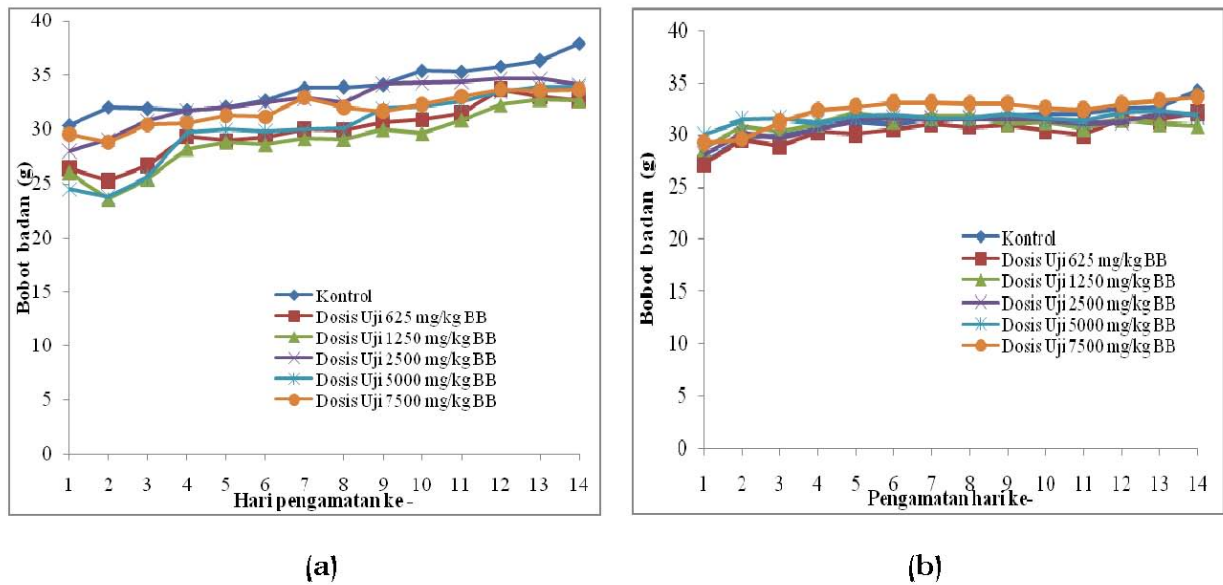


(b)

Gambar 2. Bobot badan mencit jantan (a) dan betina (b) yang telah diberi sediaan mengandung ekstrak etanol temulawak yang diradiasi gamma 5 kGy

antara bobot badan mencit betina kelompok kontrol dan kelompok dosis uji. Dari hasil analisis statistik perubahan bobot badan mencit jantan menggunakan ANOVA dan *student t-test*, secara keseluruhan menunjukkan tidak adanya perubahan yang bermakna ($p < 0,05$) antara kelompok kontrol dan kelompok dosis uji, kecuali pada H8, kelompok D5 dan pada H9 kelompok uji D3 menunjukkan persentase lebih rendah dan bermakna ($p < 0,05$) jika dibandingkan terhadap kenaikan bobot badan kelompok kontrol. Dari hasil analisis statistik perubahan bobot badan mencit betina menggunakan ANOVA dan analisis yang lebih terperinci menggunakan *student t-test*,

kontrol dan kelompok dosis uji tidak ada perbedaan. Dari hasil analisis statistik perubahan bobot badan mencit jantan menggunakan ANOVA dan *student t-test*, terlihat tidak adanya perbedaan yang bermakna ($p < 0,05$) antara kelompok kontrol dan kelompok dosis uji, kecuali pada H3, kelompok D1, D2 dan D4; pada H8, kelompok D5 dan pada H9 kelompok uji D4; pada H9, kelompok uji D2; pada H10, kelompok uji D2; dan pada H14, kelompok uji D1 dan D3 menunjukkan persentase lebih rendah dan perbedaan bermakna ($p < 0,05$) jika dibandingkan terhadap kenaikan bobot badan kelompok kontrol. Dari hasil analisis statistik perubahan bobot

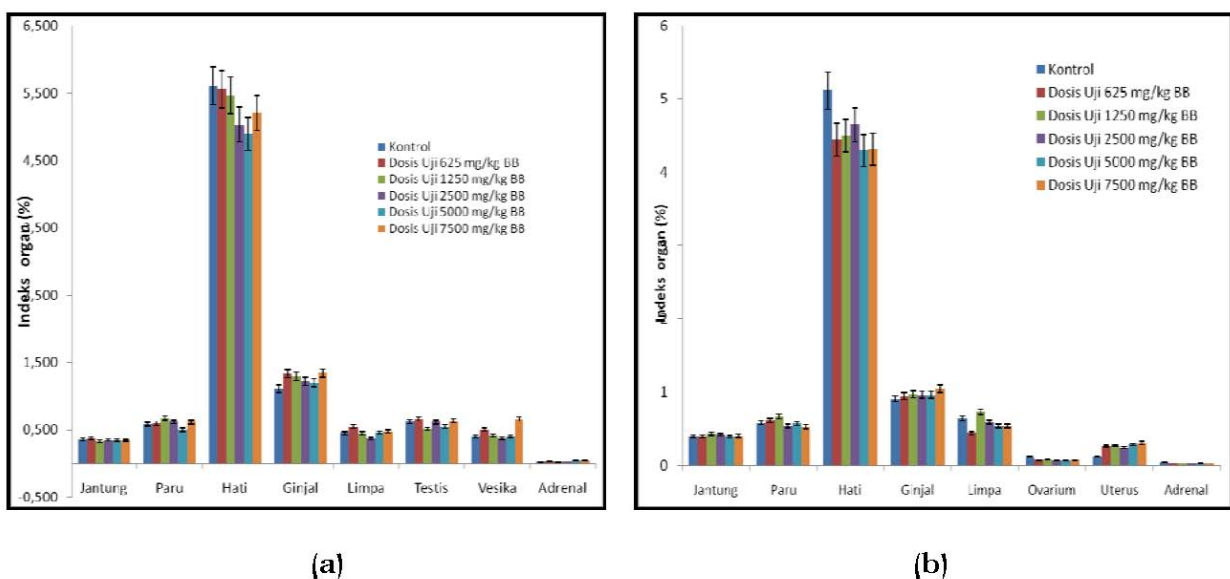


Gambar 3. Bobot badan mencit jantan (a) dan betina (b) yang telah diberi sediaan mengandung ekstrak etanol temulawak yang diradiasi gamma 10 kGy

badan mencit betina menggunakan ANOVA dan *student t-test*, secara keseluruhan terlihat tidak adanya perbedaan yang bermakna ($p < 0,05$) antara kelompok kontrol dan kelompok dosis uji.

Efek pemberian ekstrak etanol dari temulawak tanpa radiasi (0 kGy) pada organ hari ke-14. Profil indeks organ

mencit jantan dan betina dapat dilihat pada Gambar 4a dan 4b. Secara visual, pada organ jantung mencit jantan dan betina tidak terjadi perbedaan pada kelompok kontrol dan semua kelompok dosis uji, hal ini didukung dengan hasil analisis ANOVA dan *student t-test*. Pada organ paru-paru mencit jantan, secara visual, pada kelompok dosis



Gambar 4. Profil indeks organ mencit jantan (a) dan betina (b) yang telah diberi sediaan mengandung ekstrak etanol dari temulawak tanpa radiasi (0 kGy)

uji D1, D2, D3, dan D5 menunjukkan terjadinya pembesaran organ jika dibandingkan kelompok kontrol, sedangkan pada kelompok uji D4 terjadi pengecilan organ. Pada organ hati mencit jantan, secara visual, semua kelompok uji menunjukkan pengecilan organ jika dibandingkan kelompok kontrol. Pada organ limpa mencit jantan, secara visual, terjadi pembesaran organ pada kelompok uji D1 dan D5, dan terjadi pengecilan organ pada kelompok uji D3 jika dibandingkan kelompok kontrol. Pada organ testis, secara visual, terjadi pembesaran organ pada kelompok uji D1, dan terjadi pengecilan organ pada kelompok uji D2 dan D4 jika dibandingkan kelompok kontrol. Akan tetapi setelah dianalisis menggunakan metode ANOVA dan *student t-test*, hasil menunjukkan tidak adanya perubahan yang bermakna ($p < 0,05$) jika dibandingkan terhadap kelompok kontrol.

Pada organ ginjal mencit jantan, secara visual, semua kelompok uji menunjukkan pembesaran organ jika dibandingkan kelompok kontrol, tetapi setelah dianalisis menggunakan metode ANOVA dan *student t-test*, hasil menunjukkan hanya kelompok D1 dan D2 yang mempunyai perbedaan yang bermakna ($p < 0,05$) jika dibandingkan terhadap kelompok kontrol. Pada organ adrenal mencit jantan, secara visual, semua kelompok uji menunjukkan pembesaran organ jika dibandingkan kelompok kontrol, tetapi setelah dianalisis menggunakan metode ANOVA dan *student t-test*, hasil menunjukkan hanya kelompok D4 dan D5 yang mempunyai perbedaan yang bermakna ($p < 0,05$) jika dibandingkan terhadap kelompok kontrol. Pada organ vesika seminalis mencit jantan, secara visual, hampir semua kelompok uji menunjukkan pembesaran organ (kecuali D3) jika dibandingkan kelompok kontrol, tetapi setelah dianalisis menggunakan metode ANOVA dan *student t-test*, hasil menunjukkan hanya kelompok D5 yang mempunyai perbedaan yang bermakna ($p < 0,05$) jika dibandingkan terhadap kelompok kontrol.

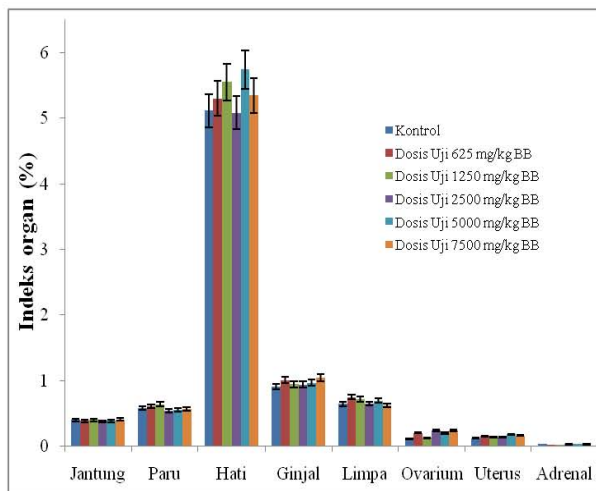
Pengamatan secara visual pada organ jantung mencit betina menunjukkan terjadinya pembesaran organ pada kelompok D2 dan D3. Pada organ paru terjadi pembesaran organ pada kelompok uji D1 dan D2, dan terjadi pengecilan organ pada kelompok dosis D3, D4 dan D5. Pada pengamatan visual organ hati, terlihat bahwa terjadi pengecilan organ pada semua dosis uji jika dibandingkan kelompok kontrol, hal ini sejalan dengan pengamatan visual organ adrenal dan ovarium, di mana semua kelompok dosis uji juga mengalami pengecilan organ. Hal ini berbeda dengan pengamatan visual pada organ ginjal dan uterus, di mana terlihat bahwa semua dosis uji menunjukkan pembesaran organ jika dibandingkan kelompok kontrol, sedangkan pada pengamatan secara visual organ limpa, terlihat hanya kelompok dosis D1 yang mengalami pengecilan organ.

Hasil analisis statistik indeks organ mencit betina menggunakan ANOVA menunjukkan tidak adanya perbedaan bermakna ($p < 0,05$) pada semua organ. Analisis yang lebih terperinci menggunakan *student t-test* menunjukkan bahwa hampir keseluruhan pengujian tidak menunjukkan perbedaan bermakna jika dibandingkan terhadap kontrol, kecuali pada organ hati kelompok dosis D5 menunjukkan perbedaan bermakna ($p < 0,05$) jika dibandingkan kontrol; organ uterus kelompok dosis D1, D3, D4 dan D5 juga menunjukkan perbedaan bermakna ($p < 0,05$) jika dibandingkan kontrol.

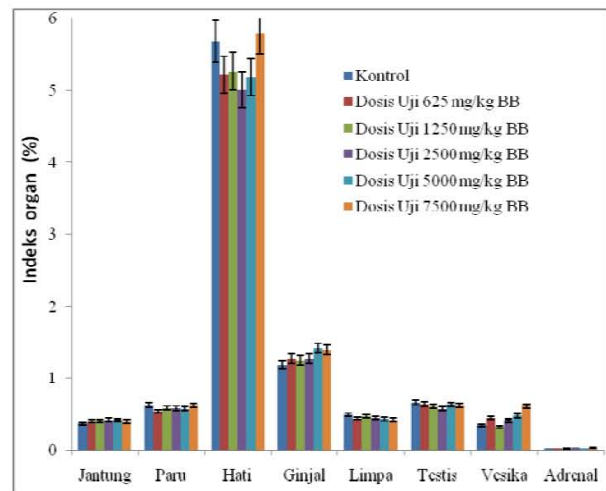
Efek pemberian ekstrak etanol dari temulawak radiasi (5 kGy) pada organ hari ke-14. Profil indeks organ mencit jantan dan betina dapat dilihat pada Gambar 5a dan 5b. Secara visual, pada indeks organ jantung dan ginjal mencit jantan semua kelompok dosis uji mengalami pembesaran jika dibandingkan kelompok kontrol. Hasil analisis menggunakan metode ANOVA menunjukkan tidak ada perubahan yang bermakna ($p < 0,05$) jika dibandingkan terhadap kelompok kontrol, tetapi setelah dianalisis menggunakan *student t-test*, terlihat bahwa pada indeks organ jantung

kelompok dosis uji D3 dan D4 dan pada indeks organ ginjal kelompok dosis uji D4 terjadi perbedaan bermakna ($p < 0,05$) jika dibandingkan kelompok kontrol.

pengcilan organ. Pada indeks organ paru-paru terjadi pembesaran organ pada kelompok uji D1 dan D2, dan terjadi pengcilan indeks organ pada kelompok



(a)



(b)

Gambar 5. Profil indeks organ mencit jantan (a) dan betina (b) yang telah diberi sediaan mengandung ekstrak etanol dari temulawak yang diradiasi 5 kGy

Pada indeks organ paru-paru, hati, limpa, dan testis, secara visual, semua kelompok uji menunjukkan pengcilan indeks organ jika dibandingkan kelompok kontrol. Setelah dianalisis menggunakan metode ANOVA dan *student t-test*, hasil menunjukkan bahwa pada indeks organ tidak adanya perbedaan yang bermakna ($p < 0,05$) jika dibandingkan terhadap kelompok kontrol. Analisis menggunakan ANOVA dan *student t test* menunjukkan bahwa pada indeks organ adrenal tidak terdapat perbedaan bermakna ($p < 0,05$) jika dibandingkan kelompok kontrol, tetapi pada indeks organ vesika terdapat perbedaan bermakna ($p < 0,05$) pada kelompok uji dosis D4 dan D5 jika dibandingkan kelompok kontrol.

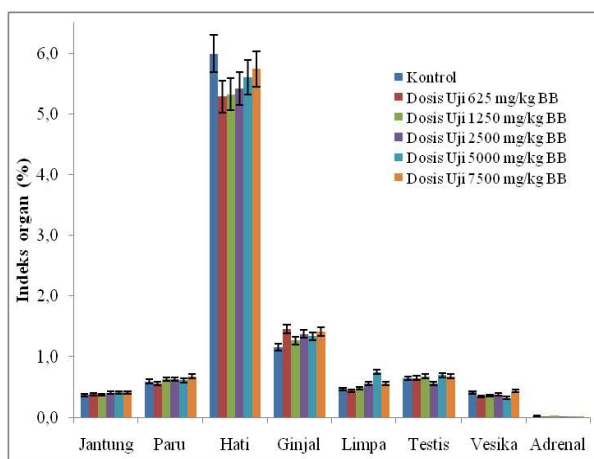
Pengamatan secara visual pada indeks organ jantung mencit betina menunjukkan terjadinya pengcilan indeks organ pada kelompok dosis uji, kecuali D5, hal ini berbeda dengan limpa dimana hanya kelompok dosis uji D5 yang mengalami

dosis D3, D4 dan D5. Pada pengamatan visual indeks organ hati, terlihat bahwa terjadi pembesaran pada hampir semua dosis uji, kecuali pada dosis uji D3. Pengamatan visual pada organ ginjal, ovarium dan uterus menunjukkan bahwa semua kelompok dosis uji mengalami pembesaran organ jika dibandingkan kelompok kontrol, sedangkan pengamatan visual pada indeks organ adrenal menunjukkan terjadinya pengcilan organ jika dibandingkan kelompok kontrol.

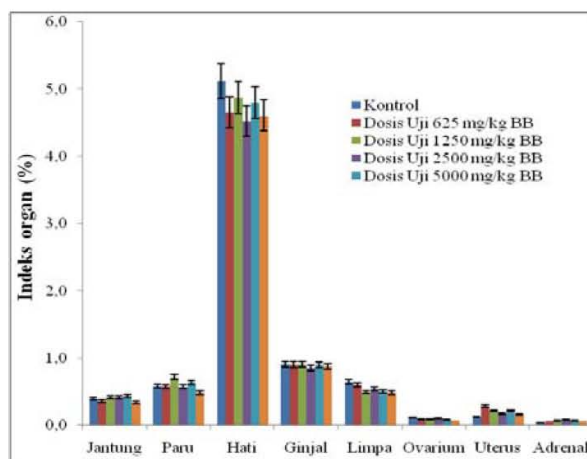
Hasil analisis statistik indeks indeks organ mencit betina menggunakan ANOVA menunjukkan tidak adanya perbedaan bermakna ($p < 0,05$) pada semua organ. Analisis yang lebih terperinci menggunakan *student t-test* menunjukkan bahwa hampir keseluruhan pengujian tidak menunjukkan perbedaan bermakna jika dibandingkan terhadap kontrol, kecuali pada indeks organ ginjal kelompok dosis D5 menunjukkan perbedaan bermakna ($p < 0,05$) jika dibandingkan kontrol.

Efek pemberian ekstrak etanol dari temulawak radiasi (10 kGy) pada organ hari ke-14. Profil indeks organ mencit jantan dan betina dapat dilihat pada Gambar 6a dan 6b. Secara visual, pada indeks organ jantung, paru-paru dan ginjal mencit jantan hampir semua kelompok dosis uji

dan *student t-test*, hasil menunjukkan bahwa pada organ hati, adrenal dan vesika seminalis dan organ limpa tidak adanya perbedaan yang bermakna ($p < 0,05$) jika dibandingkan terhadap kelompok kontrol. Namun setelah dianalisis menggunakan *student t-test*, terlihat bahwa pada indeks



(a)



(b)

Gambar 6. Profil indeks organ mencit jantan (a) dan betina (b) yang telah diberi sediaan mengandung ekstrak etanol dari temulawak yang diradiasi 10 kGy

mengalami pembesaran jika dibandingkan kelompok kontrol.

Setelah dianalisis menggunakan metode ANOVA, hasil menunjukkan tidak adanya perubahan yang bermakna ($p < 0,05$) pada indeks organ jantung dan paru-paru jika dibandingkan terhadap kelompok kontrol, tetapi setelah dianalisis menggunakan *student t-test*, terlihat bahwa pada indeks organ ginjal kelompok dosis uji D3 dan D5 terjadi perbedaan bermakna ($p < 0,05$) jika dibandingkan kelompok kontrol.

Pada indeks organ hati, adrenal dan vesika seminalis, secara visual, hampir semua kelompok uji menunjukkan pengecilan indeks organ jika dibandingkan kelompok kontrol. Pada indeks organ limpa dan testis, secara visual, hampir semua kelompok uji menunjukkan pembesaran dibandingkan kelompok kontrol. Setelah dianalisis menggunakan metode ANOVA

organ limpa kelompok dosis uji D4 terjadi perbedaan bermakna ($p < 0,05$) jika dibandingkan kelompok kontrol.

Pengamatan secara visual organ jantung dan paru-paru mencit betina menunjukkan perubahan jika dibandingkan kelompok kontrol (Gambar 6b), tetapi setelah dianalisis menggunakan metode ANOVA dan *student t-test*, hasil menunjukkan bahwa pada indeks organ jantung dan paru-paru tidak adanya perbedaan yang bermakna ($p < 0,05$) jika dibandingkan terhadap kelompok kontrol. Pengamatan secara visual pada indeks organ hati, ginjal, limpa dan ovarium mencit betina menunjukkan terjadinya pengecilan indeks organ pada kelompok dosis uji, tetapi setelah dianalisis menggunakan metode ANOVA dan *student t-test*, hasil menunjukkan bahwa tidak adanya perbedaan yang bermakna ($p < 0,05$) jika dibandingkan terhadap kelompok kontrol.

Pengamatan secara visual pada indeks organ uterus dan adrenal mencit betina menunjukkan terjadinya peningkatan indeks organ pada kelompok dosis uji, tetapi setelah dianalisis menggunakan metode ANOVA, hasil menunjukkan tidak adanya perubahan yang bermakna ($p < 0,05$) jika dibandingkan terhadap kelompok kontrol, analisis menggunakan *student t-test*, terlihat bahwa pada indeks organ uterus kelompok dosis uji D1 dan indeks organ adrenal kelompok D4 terjadi perbedaan bermakna ($p < 0,05$) jika dibandingkan kelompok kontrol.

Kematian Mencit. Suatu sediaan atau zat dikatakan toksik apabila menyebabkan kematian pada dosis 5000 mg/kg BB (12). Selama periode pengamatan (14 hari) setelah pemberian dosis tunggal ekstrak etanol (dari temulawak 0 kGy) sampai dosis 7500 mg/kg bobot badan mencit, hanya 10% populasi mencit pada kelompok dosis D4 yang mati. Setelah pemberian dosis tunggal ekstrak etanol (dari temulawak yang diradiasi 5 kGy) sampai dosis 7500 mg/kg bobot badan mencit, hanya 10 - 20 % populasi mencit pada kelompok dosis D5 yang mati. Demikian juga setelah pemberian dosis tunggal ekstrak etanol (dari temulawak yang diradiasi 10 kGy) sampai dosis 7500 mg/kg bobot badan mencit, hanya 10% populasi mencit pada kelompok dosis D4 dan D5 yang mati. Hasil uji ini menunjukkan bahwa pada dosis uji (625 mg/kg BB mencit sampai 7500 mg/kg BB mencit) ekstrak etanol dari temulawak yang tidak maupun yang diradiasi 5 dan 10 kGy tidak bersifat toksik.

Dosis Letal 50 (DL_{50}). Uji penetapan nilai DL_{50} dilakukan untuk mengetahui nilai dosis yang mampu memberikan kematian 50 % hewan coba. Pada uji toksisitas akut tersebut, dosis tertinggi yang diuji adalah 7500 mg/kg BB mencit (D5) dan sampai dosis uji tersebut tidak lebih dari 50% populasi mencit yang mati baik mencit jantan maupun betina. Hasil uji ini memberi indikasi bahwa DL_{50} ekstrak etanol temulawak yang tidak diradiasi maupun yang diradiasi 5 dan 10 kGy > 7500 mg/kg BB mencit.

KESIMPULAN

Pada uji toksisitas akut ekstrak etanol dari temulawak tidak diradiasi, yang diradiasi 5 dan 10 kGy, dosis tertinggi yang diuji masing-masing adalah 7500 mg/kg BB mencit. Hasil uji toksisitas akut ekstrak etanol yang diperoleh dari rimpang temulawak yang tidak dan yang diradiasi 5 dan 10 kGy terhadap mencit jantan dan betina menunjukkan bahwa dosis tunggal oral sampai 7500 mg/kg BB, tidak ada efek toksik yang bermakna dan nilai DL_{50} ketiga ekstrak adalah lebih besar dari 7500 mg/kg BB. Sampai dosis 7500 mg/kg BB sebagai dosis tunggal oral ketiga ekstrak tidak memengaruhi perkembangan bobot badan dan bobot organ (jantung, paru, hati, limpa, ginjal, limpa, adrenal, testis dan *vesica seminalis*) pada mencit jantan dan betina.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terimakasih kepada DIKTI yang telah memberikan dana Blok Grand 2010, juga kepada seluruh staf Kelompok Iradiator-PATIR BATAN yang telah membantu mengiradiasi sampel sehingga penelitian ini terlaksana dengan baik.

DAFTAR PUSTAKA

1. NUR YUHASLIZA, A.R., Chemical constituents and biological activity of *Curcuma xanthorrhiza* and *Curcuma heyneana*, The School Graduate Study, Universiti Putra Malaysia, ii, (2004).
2. LIN, S.C., LIN, C.C., LIN Y.H., SUPRIYATNA, S., and TENG, C.W., Protective and therapeutic effects of *Curcuma xanthorrhiza* on hepatotoxin-induced liver damage, *Am J Chin Med.*, 23 (3-4), 243-254 (1995).

3. PARK, J.H., PARK, K.K., KIM M.J., HWANG, J.K., PARK, S.K., and W.Y., Cancer chemoprotective effects of Curcuma xanthorrhiza, *Phytother Res.*, **22** (5), 695-698, (2008).
4. CHEAH, Y.H., AZIMAHTOL, H.L.P. and ABDULLAH, N.R., Xanthorrhizol exhibits antiproliferative activity on MCF-7 breast cancer cells via apoptosis induction, *Anticancer Research*, **26** (6B), 4527-4534 (2006).
5. HILMY, N., Iradiasi Rempah dan Jamu : Suatu Tinjauan Pustaka, Ris. Sem. Nas. Pengawetan Makanan dengan Iradiasi, BATAN, Jakarta, 43, (1984).
6. SUCHANDRA, C., PRASAD, S. V., ACHYUT, S., GHOLAP, S.R., PADWAL, D. and BONGIRWAR, D.R., Effect of γ -irradiation on the volatile oil constituents of turmeric (*Curcuma longa*), *Food Research International*, **33** (2), March, 103-106 (2000).
7. CHOSDU, R., ERIZAL, IRIAWAN, T., and HILMY, N., The effect of gamma irradiation on curcumin component of Curcuma domestica, *Radiation Physics and Chemistry*, **46** (4-6), Part 1, October-December, 663-667 (1995).
8. CHOSDU, R., Gamma radiation processing on temulawak (*C. Xanthorrhiza* Roxb.) and other Zingiberaceae, *Jurnal Aplikasi Isotop dan Radiasi* **4** (2), 109-115 (2008).
9. WINARNO, H., SUSANTO, dan KATRIN, E., Aktivitas Sitotoksitas dan Profil Kromatogram Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.) Setelah Iradiasi Gamma (dalam proses penerbitan).
10. THOMPSON, E.B., "Drug Bioscreening Fundamentals of Drug Evaluation Techniques in Pharmacology", Graceway Publ. Co Inc., New York, 87-112 (1985).
11. ANONIM, OECD Guideline for testing of Chemicals, Test No. 423 : Acute Oral Toxicity - Acute Toxic Class Method, adopted: 17th December 2001, 1-14 (2001). (Cited at April 6, 2011: http://www.oecd-ilibrary.org/environment/oecd-guidelines-for-the-testing-of-chemicals-section-4-health-effects_20745788)
12. ANONIM, "Pedoman Pelaksanaan Uji Klinik Obat Tradisional", DepKes RI, Ditjen POM Direktorat Pengawasan Obat Tradisional, Jakarta, (2000).