

**KEAMANAN SAMBILOTO (*Andrographis paniculata nees*) KERING YANG
DIIRADIASI GAMMA BERDASARKAN ASPEK TOKSISITAS AKUTNYA
TERHADAP MENCIT GALUR SWISS WEBSTER**

Ermin Katrin, Susanto dan Hendig Winarno

Laboratorium Bahan Kesehatan PAIR – BATAN
Jl. Lebak Bulus Raya No. 49, Pasar Jumat, Jakarta 12440
e-mail : erminkk@batan.go.id

Diterima: 26-04-2014

Diterima dalam bentuk revisi: 04-06-2014

Disetujui: 23-06-2014

ABSTRAK

KEAMANAN SAMBILOTO (*Andrographis paniculata nees*) KERING YANG DIIRADIASI GAMMA BERDASARKAN ASPEK TOKSISITAS AKUTNYA TERHADAP MENCIT GALUR SWISS WEBSTER. *Andrographis paniculata* Nees (keluarga: *Acantheceae*) adalah tanaman obat yang umum dibudidayakan di negara-negara Asia. Tujuan penelitian ini adalah mengevaluasi keamanan sambiloto yang diiradiasi terhadap hewan uji dan mendukung aplikasi teknik nuklir untuk pasteurisasi radiasi sambiloto sebagai produk kesehatan tanpa mengubah khasiatnya. Pada uji toksisitas akut ini diamati tentang efek bahan yang diuji terhadap perubahan tingkah laku, abnormalitas fungsi beberapa organ dan perubahan bobot badan hewan uji setiap hari selama 2 minggu. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak etanol sambiloto yang tidak dan yang diiradiasi gamma 7,5 kGy tidak bersifat toksik terhadap hewan uji. Dosis Letal 50 (DL₅₀) ekstrak etanol dari daun sambiloto baik yang tidak diradiasi maupun yang diradiasi 7,5 kGy > 5000 mg/kg BB. Pada dosis tertinggi yang diuji adalah 5000 mg/kg BB mencit tidak ada efek toksik yang bermakna dan tidak ada hewan uji yang mati selama percobaan, oleh karena itu ekstrak etanol dari simplisia yang tidak diradiasi (0 kGy) maupun yang diiradiasi 7,5 kGy dapat dinyatakan aman.

Kata kunci : toksisitas akut, diiradiasi, sambiloto, *Andrographis paniculata nees*

ABSTRACT

SAFETY OF DRIED SAMBILOTO *Andrographis paniculata* (Burm. F.) nees GAMMA IRRADIATED BASED ON ACUTE TOXICITY ASPECT IN MICE SWISS WEBSTER. *Andrographis paniculata nees* (Family: *Acantheceae*) is a medicinal plant commonly cultivated in Asian countries. The purpose of this study was to evaluate the safety of gamma irradiated *sambiloto* against to animal test (mice) and to support the application of nuclear techniques for radiation pasteurization of *sambiloto* as health products without changing the properties. In the acute toxicity test was observed the effects of the tested material on behavioral changes, abnormalities in the function of several organs and body weight changes in animal test every day for 2 weeks. The results showed that the ethanol extract of unirradiated and irradiated with dose of 7.5 kGy) *sambiloto* were not toxic to mice. Lethal Dose 50 (DL₅₀) of ethanol extract from *sambiloto* unirradiated or irradiated at the dose of 7.5 kGy was > 5000 mg/kg BW. At the highest dose tested 5000 mg/kg BW mice there were no significant toxic effects and no mice that died during the experiment, therefore ethanol extracts of un irradiated and irradiated samples could be declared safe.

Keywords: acute toxicity, irradiated, sambiloto, *Andrographis paniculata nees*

1. PENDAHULUAN

Bahan herbal iradiasi dari simplisia maupun dalam bentuk formula kapsul maupun tablet telah digunakan oleh masyarakat. Iradiasi gamma membuat sediaan atau simplisia menjadi higienis dan siap digunakan oleh konsumen, produk herbal yang diiradiasi harus aman atau tidak toksik bagi konsumen. Semua produk atau sediaan obat yang akan digunakan pada manusia harus terlebih dahulu diuji toksisitas akut pada hewan uji untuk memperoleh gambaran resiko manfaat penggunaan dosis tunggal sediaan atau produk tersebut. Pada uji toksisitas akut ekstrak etanol dari rimpang temulawak kering yang diiradiasi gamma dosis 5 dan 10 kGy terhadap mencit tidak ada kematian dan tidak ada efek toksik yang bermakna dengan LD₅₀ lebih besar dari 7500 mg/kg BB, sehingga dinyatakan aman (1). Demikian juga ekstrak etil asetat dari benalu teh kering yang diiradiasi 10 kGy tidak toksik dengan LD₅₀ 10000 mg/kg BB (2). Herbal sambiloto telah dikenal masyarakat Asia sebagai stimulan sistem imun tubuh, mengobati infeksi pada saluran pencernaan, demam, herpes dan berbagai penyakit infeksi kronis (3). Senyawa-senyawa yang aktif dalam sambiloto yaitu andrograpolida (3-(2-(dekahidro-6-hidroksil-5-(hidroksimetil)-5, 8a-dimetil-2-metilenaftil)etiliden) dihidro-4-hidroksifuran-2(3H)-on), neoandrografolida, kalmegnin, konstituen kimia lainnya yaitu andrograpaosida, andrografanin, 14-deoksi-12-metoksiandrografolida dan deoksiandrografolida (4). Efek farmakologi sambiloto diantaranya sebagai antioksidan, antidiabetik, antifertilitas, anti HIV-1, antinflua, anti malaria, antidiare dan

hepatoprotektif.

Pada penelitian ini akan diteliti pengaruh iradiasi gamma pada toksisitas akut ekstrak etanol dari sambiloto terhadap mencit. Hipotesis penelitian (Ho) adalah iradiasi gamma tidak berpengaruh pada ketoksikan akut ekstrak etanol sambiloto yang tidak diiradiasi dan yang diiradiasi gamma. Toksisitas akut adalah toksisitas yang terjadi dalam waktu singkat setelah pemberian sediaan uji dosis tunggal. Uji toksisitas akut bertujuan antara lain untuk menentukan potensial toksik suatu zat atau sediaan uji serta untuk menentukan bahaya atau tidak bila zat/sediaan uji termakan dalam jumlah besar. Selain itu, melalui uji toksisitas akut dapat juga diperoleh gambaran Dosis Letal 50 (DL₅₀) sediaan uji serta tingkat-tingkat dosis untuk uji-uji selanjutnya seperti uji toksisitas subkronis dan kronis. Suatu sediaan atau zat dikatakan toksik apabila menyebabkan kematian pada dosis 5000 mg/kg BB. Oleh karena itu pada uji toksisitas akut ekstrak etanol sambiloto akan dilakukan pada 4 tingkatan dosis sebagai berikut 0 mg/kg BB (kontrol); 625 mg/kg BB; 1250 mg/kg BB; 2500 mg/kg BB; dan 5000 mg/kg BB.

Dosis maksimum radiasi gamma daun sambiloto yang diperoleh dari penelitian sebelumnya adalah 7,5 kGy untuk penggunaan daun sambiloto sebagai obat anti kanker. Dosis 7,5 kGy ini tidak menyebabkan perubahan pada profil KLT dan IC₅₀ daun sambiloto terhadap sel leukemia K-562 (19,82 µg/ml) dan HUT-78 (13,43 µg/ml) (4). Tujuan penelitian untuk mengetahui keamanan daun sambiloto

melalui uji toksisitas akut secara oral pada hewan uji mencit putih galur Swiss-Webster dengan melakukan pengamatan berbagai efek farmakologik, perubahan bobot badan dan indeks profil indeks organ dalam.

2. BAHAN DAN TATA KERJA

2.1 Bahan dan Alat

Bahan uji adalah daun sambiloto kering (kadar air 8 %), yang diperoleh dari BALITTRO, Bogor. Bahan kimia yang digunakan yaitu etanol, air suling, dan Natrium Carboxy Metil Selulosa (Na CMC). Iradiasi sampel dilakukan di fasilitas Iradiator Karet Alam PAIR-BATAN, Jakarta. Penguap putar vakum (Buchi), alat-alat gelas yang umum di laboratorium farmakologi, mortir dan stamper, sonde oral mencit, timbangan mencit, timbangan analitik, alat bedah, serta seperangkat alat uji toksisitas yang lazim digunakan untuk uji toksisitas akut.

2.2. Hewan Uji

Hewan uji adalah mencit galur *Swiss Webster* jantan dan betina, usia 2 bulan yang dibeli dari Pusat Ilmu Hayati ITB.

2.3. Iradiasi dan pembuatan ekstrak.

Serbuk kasar daun sambiloto yang telah kering dibungkus dalam kantong plastik polietilen masing-masing seberat 1 kg, kemudian ditutup rapat dengan *sealer*. Satu bungkus sampel tidak diiradiasi (sebagai control atau sampel A) dan bungkus yang lain diiradiasi gamma (sampel B) dengan sumber ^{60}Co pada dosis 7,5 kGy. Aktivitas irradiator yang digunakan 140 kCi dengan laju dosis 10 kGy/jam.

Serbuk sambiloto yang tidak dan yang diiradiasi, masing-masing dimaserasi dalam pelarut etanol. Beberapa kali maserat disaring dan filtratnya dikumpulkan, lalu dipekatkan dengan penguap putar vakum pada suhu kurang lebih 37°C, sehingga diperoleh ekstrak daun sambiloto untuk bahan uji toksisitas akut.

2.4. Uji toksisitas akut

Uji toksisitas akut ekstrak etanol sambiloto berdasarkan OECD guideline test. Parameternya bobot badan selama 14 hari, kematian, indeks organ, dan pengamatan farmakologi (6,7). Sebagai hewan uji digunakan mencit putih jantan dan betina galur *swisswebster*, usia 2 bulan, berat badan antara 20 - 38 g. Mencit uji terlebih dahulu diklimatisasi selama 1 minggu di Laboratorium Farmakologi Pusat Ilmu Hayati, ITB dan hanya mencit sehat yang digunakan dalam percobaan. Hewan uji dikelompokkan ke dalam 5 kelompok. Setiap kelompok terdiri dari 5 ekor jantan dan 5 ekor betina. Sediaan uji adalah ekstrak etanol daun sambiloto, uji dengan 4 tingkat dosis yaitu 625 mg/kg Berat Badan (BB); 1250 mg/kg BB; 2500 mg/kg BB; dan 5000 mg/kg BB yang terlebih dahulu disuspensikan dalam Na-CMC 0,5% , kemudian diberikan secara oral dalam dosis tunggal 1 ml per 20 g mencit, satu dosis per kelompok. Tiap kelompok terdiri dari 5 mencit jantan dan 5 mencit betina yang dikelompokkan secara rawu. 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 2 menit, pada tiap jam

selama 4 jam. Pengamatan dilanjutkan selama 14 hari sejak sediaan uji diberikan terhadap gejala-gejala fisik dan jumlah hewan uji yang mati akibat pemberian sediaan uji. Pengamatan meliputi efek terhadap sistem syaraf pusat, sistem saraf otonom, refleks, ritme pernapasan, perbedaan dalam ekskresi, kondisi kulit dan mukosa, postur tubuh, kecepatan denyut jantung dan beberapa respon lainnya yang umum diamati pada pada uji toksisitas akut. Perbedaan bobot badan dan kematian mencit dipantau terus setiap hari sampai 14 hari setelah pemberian sediaan uji. Apabila ada mencit yang mati selama pengamatan, segera dibedah untuk menentukan sebab kematian. Pada hari ke 14, semua mencit dikorbankan kemudian organ mencit ditimbang dan dihitung indeks organ terhadap bobot badan mencit. Organ-organ yang diambil untuk pengamatan pada mencit jantan adalah hati, limpa, paru-paru, ginjal, jantung, vassikal seminalis dan testis sedangkan pada mencit betina organ yang diamati adalah hati, limpa, paru-paru, ginjal, jantung, ovarium dan uterus. Indeks organ (%) adalah nilai (bobot organ / bobot badan) x 100%. Selain itu pengamatan yang dilakukan adalah profil perbedaan bobot badan mencit. Kebermaknaan data yang diperoleh diolah secara statistik menggunakan *student t-test* dan ANOVA (8).

3 HASIL DAN PEMBAHASAN

3.1 Pengujian toksisitas akut ekstrak etanol dari daun sambiloto yang tidak diiradiasi

3.1.1 Profil aktivitas farmakologik

Profil aktivitas farmakologik mencit

jantan setelah pemberian dosis tunggal ekstrak etanol daun sambiloto yang tidak diiradiasi menunjukkan bahwa pada kelompok kontrol dan kelompok dosis uji terjadi perbedaan aktivitas motorik, fenomena *straub*, *reestablishment*, dan urinasi. Setelah 30 menit pemberian dosis tunggal sediaan cair yang mengandung ekstrak etanol daun sambiloto yang tidak diiradiasi, semua kelompok dosis uji mengalami penurunan aktivitas motorik jika dibandingkan kelompok kontrol. Fenomena *straub* terjadi pada dosis 2500 mg/kg BB dan 5000 mg/kg BB. Laporan peneliti sebelumnya pada pemberian sambiloto dengan dosis lebih rendah, yaitu 500 mg/kg BB diberikan selama 10 hari setiap hari pada mencit, tidak ada efek pada per-tumbuhan, selera makan dan produksi feses, hewan uji tetap energik dan hasil jumlah darah lengkapnya berada pada batas normal (9).

Profil aktivitas farmakologik mencit betina menunjukkan bahwa pada kelompok kontrol dan kelompok dosis uji terjadi perbedaan aktivitas motorik, *reestablishment*, bulu berdiri, defekasi dan urinasi. Fenomena *straub* terjadi pada kelompok dosis uji 2500 mg/kg BB dan 5000 mg/kg BB. Pada kedua kelompok mencit uji (jantan dan betina), menunjukkan tidak ada mencit yang mati setelah pemberian dosis tunggal ekstrak etanol daun sambiloto yang tidak diiradiasi selama periode pengamatan

3.1.2. Bobot badan mencit.

Profil bobot badan mencit jantan dapat dilihat pada Gambar 1 dan profil bobot badan mencit betina dapat dilihat pada

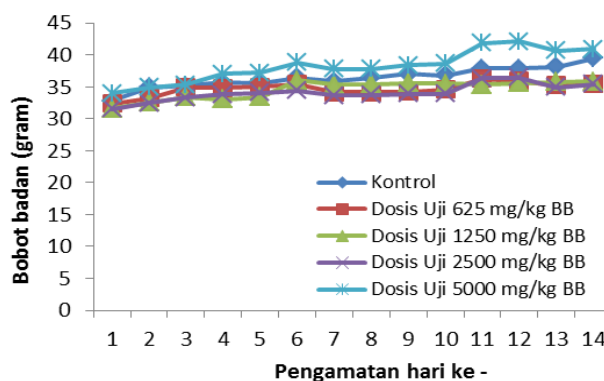
Gambar 2. Analisis statistik perbedaan bobot badan (%) mencit jantan menggunakan uji-t dapat dilihat pada Tabel 1, perbedaan bobot badan (%) mencit betina dapat dilihat pada Tabel 2. Secara visual, terlihat bahwa bobot badan mencit jantan kelompok uji dosis 5000 mg/kg BB di atas bobot badan kelompok lainnya (Gambar 1). Sedangkan pada Gambar 2 terlihat bahwa bobot badan mencit betina kelompok dosis uji 625 mg/kg BB di bawah kelompok lainnya.

Hasil analisis statistik (Tabel 1) perbedaan bobot badan mencit jantan (menggunakan ANOVA) menunjukkan pada hari ke-3 dan hari ke-11 ada perbedaan yang bermakna antara kelompok kontrol dan kelompok dosis uji ($p < 0,05$). Hasil analisis lebih terperinci menggunakan student t-test menunjukkan bahwa pada kelompok uji dosis 625 mg/kg BB dan 1250 mg/kg BB tidak mempunyai perbedaan bermakna jika dibandingkan kelompok kontrol ($p > 0,05$). Pada kelompok uji dosis 2500 mg/kg BB terlihat bahwa perbedaan bermakna terjadi pada hari ke-3 dan hari ke-13 ($p < 0,05$). Pada kelompok uji dosis 5000 mg/kg BB terlihat pada hari ke-11, hari ke-12 dan hari

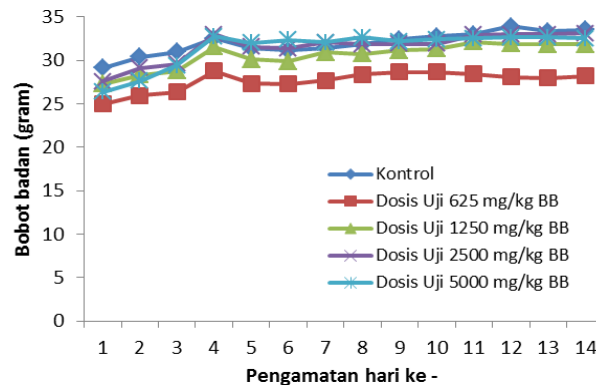
ke-13 terjadi perbedaan bermakna jika dibandingkan kelompok kontrol ($p < 0,05$).

Hasil analisis statistik (Tabel 2) perbedaan bobot badan mencit betina menunjukkan perbedaan bermakna pada hari ke-3 dan hari ke-7 menunjukkan adanya perbedaan bermakna antara kelompok kontrol dan kelompok dosis uji ($p < 0,05$). Hasil analisis lebih terperinci menggunakan student t-test menunjukkan kelompok dosis uji 625 mg/kg BB, 1250 mg/kg BB dan 2500 mg/kg BB tidak memiliki perbedaan bermakna jika dibandingkan kontrol ($p > 0,05$). Pada kelompok uji dosis 5000 mg/kg BB, hanya hari ke-3 yang mempunyai perbedaan bermakna jika dibandingkan kelompok kontrol ($p < 0,05$).

Perbedaan bermakna dari bobot badan bahan uji pada hewan uji disebabkan suatu proses adaptasi terhadap stres setelah mengalami perlakuan pada hari tertentu, namun setelah beberapa hari keadaan nafsu makannya kembali normal karena hewan uji dapat beradaptasi dengan bahan uji yang dimakan.



Gambar 1. Grafik bobot badan mencit jantan yang telah diberi sediaan ekstrak etanol sambiloto yang tidak diradiasi



Gambar 2. Grafik bobot badan mencit betina yang telah diberi sediaan ekstrak etanol sambiloto yang tidak diradiasi

Tabel 1. Analisis statistik perubahan bobot badan (%) mencit jantan yang diberi ekstrak dari sambiloto yang tidak diiradiasi (A) dibandingkan kontrol dengan menggunakan student t-test

Kelompok	Nilai P													
	Hari ke-2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	
Sampel A dosis 625 mg/kg BB	0,119	0,003	0,590	0,717	0,547	0,306	0,473	0,601	0,374	0,289	0,120	0,187	0,184	
Sampel A dosis 1250 mg/kg BB	0,147	0,205	0,313	0,528	0,224	0,902	0,562	0,611	0,922	0,174	0,111	1,000	0,104	
Sampel A dosis 2500 mg/kg BB	0,131	0,033*	0,918	0,633	0,487	0,762	0,520	0,595	0,727	0,107	0,745	0,030*	0,229	
Sampel A dosis 5000 mg/kg BB	0,113	0,557	0,141	0,697	0,584	0,453	0,494	0,979	0,553	0,010*	0,043*	0,048*	0,168	

Keterangan : $P < 0,05$ = Ada perbedaan yang bermakna (*); $P > 0,05$ = Tidak ada perbedaan yang bermakna

Tabel 2. Analisis statistik perubahan bobot badan (%) mencit betina yang diberi ekstrak sambiloto yang tidak diiradiasi dibandingkan kontrol dengan menggunakan student t-test

Kelompok	Nilai P													
	Hari ke-2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	
Sampel A dosis 625 mg/kg BB	0,877	0,773	0,206	0,327	0,631	0,702	0,316	0,638	0,457	0,414	0,125	0,597	0,965	
Sampel A dosis 1250 mg/kg BB	0,748	0,811	0,219	0,433	0,987	0,150	0,219	0,713	0,690	0,367	0,253	0,460	0,599	
Sampel A dosis 2500 mg/kg BB	0,696	0,923	0,087	0,492	0,808	0,407	0,014	0,361	0,474	0,294	0,513	0,419	0,916	
Sampel A dosis 5000 mg/kg BB	0,956	0,035*	0,072	0,472	0,174	0,229	0,419	0,120	0,759	0,811	0,659	0,411	0,598	

Keterangan : $P < 0,05$ = Ada perbedaan yang bermakna (*); $P > 0,05$ = Tidak ada perbedaan yang bermakna

3.1.3. Efek pada organ.

Diagram batang indeks organ mencit jantan dapat dilihat pada Gambar 3 sedangkan diagram batang indeks organ mencit betina dapat dilihat pada Gambar 4. Analisis statistik indeks organ mencit jantan menggunakan uji-t dapat dilihat pada Tabel 3 dan indeks organ mencit betina dapat dilihat pada Tabel 4. Secara visual, pada

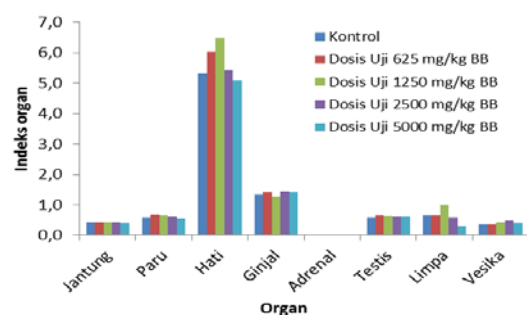
jantung tidak terlihat kenaikan pada semua kelompok uji. Pada hati dan limpa, terlihat kelompok uji dosis 1250 mg/kg BB mempunyai nilai tertinggi. Hasil analisis statistik menggunakan ANOVA menunjukkan bahwa pada mencit jantan, hati mempunyai perbedaan bermakna dibandingkan kontrol ($p < 0,05$). Hasil analisis lebih terperinci (Tabel 3) menggunakan uji-t me-

nunjukkan bahwa pada hati kelompok dosis 1250 mg/kg BB mempunyai perbedaan bermakna dibandingkan kelompok kontrol ($p < 0,05$). Berat organ merupakan penunjuk yang sangat peka dari efek bahan uji pada hati sebagai indeks organ (9). Perbedaan bermakna antara kelompok yang diberi bahan uji dengan kelompok yang tidak diberi bahan uji menunjukkan adanya gangguan pada jaringan hati, namun sel organ hati mampu regenerasi kembali (9), sehingga kondisi hewan uji kembali sehat. Pada kelompok uji dosis 625 mg/kg BB, 2500 mg/kg BB dan 5000 mg/kg BB menunjukkan tidak ada perbedaan bermakna dibandingkan kelompok kontrol ($p > 0,05$).

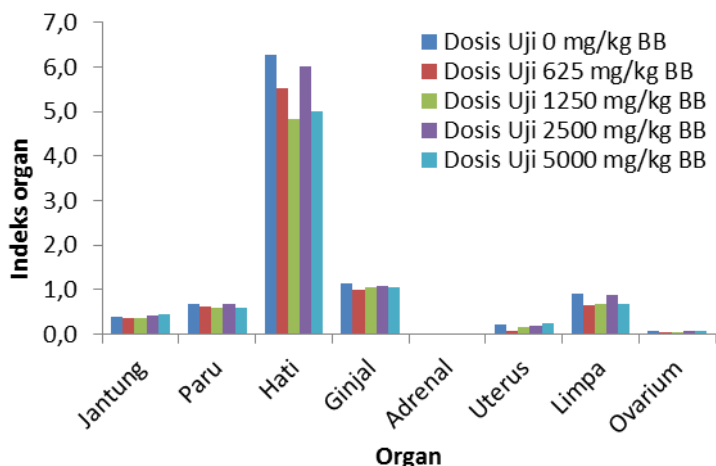
Indeks organ mencit betina dapat dilihat pada Gambar 4. Secara visual, semua organ mempunyai nilai di bawah kelompok kontrol. Pada paru, hati, ginjal dan limpa terlihat bahwa dosis 625 mg/kg BB, 1250 mg/kg BB dan 5000 mg/kg BB menyebabkan penurunan angka indeks organ. Hasil analisis statistik menggunakan ANOVA menunjukkan bahwa pada mencit betina, hati dan limpa menunjukkan perbedaan yang bermakna dibandingkan kelompok kontrol ($p < 0,05$). Hasil analisis lebih terperinci (Tabel 4) menggunakan uji-t menunjukkan bahwa pada kelompok uji dosis 2500 mg/kg BB tidak mempunyai perbedaan bermakna dibandingkan kontrol ($p > 0,05$). Pada kelompok uji dosis 625 mg/kg BB terlihat bahwa pada ovarium dan uterus terjadi perbedaan bermakna dibandingkan kelompok

kontrol ($p < 0,05$), hasil analisis kelompok dosis uji 1250 mg/kg BB menunjukkan pada hati dan ovarium terjadi perbedaan bermakna jika dibandingkan kontrol ($p < 0,05$). Hasil analisis kelompok uji dosis 5000 mg/kg BB menunjukkan perbedaan nyata pada hati dibandingkan kontrol ($p < 0,05$).

Efek toksik dapat terjadi karena pengikatan racun ke organ vital seperti hati dan ginjal, efek samping yang ditunjukkan pada hewan uji merupakan interaksi antara bahan uji dan sel organ (10). Interaksi ini dapat bervariasi tergantung pada sifat racun dari bahan uji dan membran sel, karena efek gangguan dapat terjadi pada permukaan sel, di dalam sel tubuh, atau dalam jaringan di bawah maupun di matriks ekstraseluler (10). Pada penelitian ini, meskipun telah terjadi perbedaan bermakna pada indeks organ mulai dosis uji 625 mg/kg BB, namun pengaruhnya setelah beberapa hari hewan uji dapat meregenerasi sel organnya dan kembali pulih akibat perlakuan



Gambar 3. Diagram batang indeks organ mencit jantan yang telah diberi sediaan ekstrak etanol sambiloto yang tidak diradiasi



Gambar 4. Profil indeks organ mencit betina yang telah diberi sediaan ekstrak etanol sambiloto yang tidak diradiasi

Tabel 3. Analisis statistik indeks organ mencit Jantan yang diberi ekstrak sambiloto yang tidak diradiasi dibandingkan kontrol dengan menggunakan student t-test

Kelompok	Nilai P							
	Jantung	Paru-paru	Hati	Sepasang Ginjal	Limpa	Sepasang Adrenal	Sepasang Testis	Vesica Seminalis
Sampel A dosis 625 mg/kg BB	0,706	0,197	0,134	0,611	0,911	0,377	0,174	0,961
Sampel A dosis 1250 mg/kg BB	0,869	0,118	0,008*	0,743	0,091	0,717	0,316	0,219
Sampel A dosis 2500 mg/kg BB	0,714	0,892	0,783	0,496	0,765	0,655	0,545	0,104
Sampel A dosis 5000 mg/kg BB	0,191	0,450	0,298	0,590	0,030	0,732	0,664	0,467

Keterangan : $P < 0,05$ = Ada perbedaan yang bermakna (*); $P > 0,05$ = Tidak ada perbedaan yang bermakna

Tabel 4. Analisis statistik indeks organ mencit betina yang diberi ekstrak sambiloto yang tidak diradiasi dibandingkan kontrol dengan menggunakan student t-test

Kelompok	Nilai P							
	Jantung	Paru-paru	Hati	Sepasang Ginjal	Limpa	Sepasang Adrenal	Ovarium	Uterus
Sampel A dosis 625 mg/kg BB	0,095	0,383	0,204	0,121	0,218	0,765	0,012*	0,033*
Sampel A dosis 1250 mg/kg BB	0,328	0,139	0,040*	0,463	0,217	0,587	0,048*	0,379
Sampel A dosis 2500 mg/kg BB	0,317	0,987	0,683	0,608	0,927	0,977	0,885	0,601
Sampel A dosis 5000 mg/kg BB	0,013*	0,101	0,013*	0,332	0,200	0,305	0,210	0,677

Keterangan : $P < 0,05$ = Ada perbedaan yang bermakna (*); $P > 0,05$ = Tidak ada perbedaan yang bermakna

3.2. Pengujian toksisitas akut ekstrak etanol dari sambiloto yang diradiasi 7,5 kGy

3.2.1. Profil Aktivitas farmakologik.

Profil aktivitas farmakologik mencit

jantan dan betina setelah pemberian dosis tunggal ekstrak etanol daun sambiloto yang diradiasi 7,5 kGy menunjukkan bahwa pada kelompok kontrol dan kelompok dosis uji terjadi perbedaan aktivitas motorik, ptosis,

reestablishment, jalan melingkar, bulu berdiri, defekasi dan urinasi. Setelah 30 menit pemberian dosis tunggal sediaan cair yang mengandung etanol daun sambiloto yang diradiasi 7,5 kGy, semua kelompok dosis uji mengalami penurunan aktivitas motorik jika dibandingkan kelompok kontrol. Efek ptosis terjadi terutama pada dosis 5000 mg/kg BB. Pada pengujian *reestablishment*, pada kelompok dosis uji 2500 mg/kg BB dan 5000 mg/kg BB, minimal 25% dari populasi mengalami kehilangan kemampuan untuk memulihkan fisik *righting ability* (posisi diri).

Profil aktivitas farmakologik mencit betina menunjukkan bahwa pada kelompok kontrol dan kelompok dosis uji terjadi perbedaan aktivitas motorik, *reestablishment*, bulu berdiri, defekasi dan urinasi. Penurunan aktivitas motorik terjadi pada kelompok dosis uji terjadi setelah 30 menit pemberian dosis tunggal sediaan cair yang mengandung etanol daun sambiloto yang diradiasi 7,5 kGy. Fenomena *straub* terjadi hanya pada kelompok dosis uji 1250 mg/kg BB, sedangkan ptosis terjadi pada kelompok dosis uji 625 mg/kg BB, 1250 mg/kg BB dan 2500 mg/kg BB, dan *reestablishment* pada kelompok dosis uji 2500 mg/kg BB dan 5000 mg/kg BB, minimal 25% dari populasi mengalami kehilangan kemampuan untuk memulihkan fisik posisi diri. Dari pengamatan selama empat jam terlihat terjadi penurunan aktivitas motorik, dan pengamatan pada fenomena *straub*, ptosis dan *reestablishment*, memberikan dugaan bahwa etanol simplisia sambiloto yang diiradiasi 7,5 kGy mempunyai potensi neuroleptik.

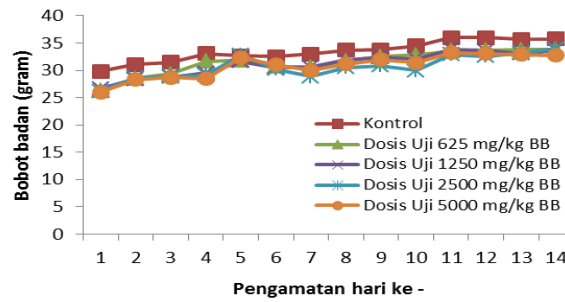
Pada kedua kelompok mencit jantan

dan betina, menunjukkan tidak ada mencit yang mati setelah pemberian dosis tunggal etanol simplisia sambiloto yang di-radiasi 7,5 kGy selama periode pengamatan.

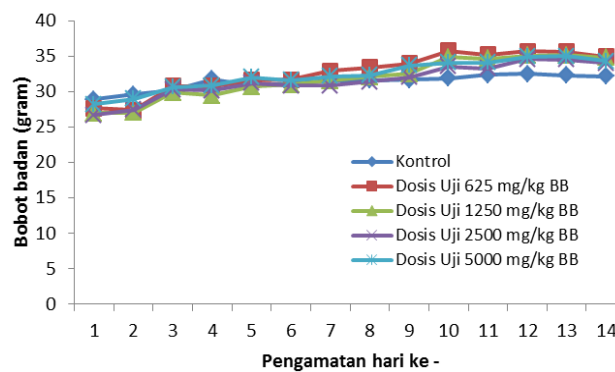
3.2.2. Bobot badan mencit

Profil bobot badan mencit jantan dapat dilihat pada Gambar 5 dan profil bobot badan mencit betina dapat dilihat pada Gambar 6. Secara visual, seperti yang terlihat pada Gambar 5, terlihat bahwa bobot badan mencit jantan kelompok kontrol di atas bobot badan kelompok uji, tetapi antar kelompok uji tidak terlihat perbedaan. Sedangkan pada Gambar 6 terlihat bahwa bobot badan mencit betina kelompok kontrol tidak berbeda dengan kelompok uji.

Hasil analisis statistik perbedaan bobot badan mencit jantan (menggunakan ANOVA) menunjukkan tidak ada perbedaan yang bermakna antara kelompok kontrol dan kelompok dosis uji ($p > 0,05$). Hasil analisis lebih terperinci (Tabel 5) menggunakan student t-test menunjukkan bahwa pada kelompok uji dosis 625 mg/kg BB tidak mempunyai perbedaan bermakna jika dibandingkan kelompok kontrol ($p > 0,05$). Pada kelompok uji dosis 1250 mg/kg BB terlihat bahwa perbedaan bermakna terjadi pada hari ke-10 ($p < 0,05$). Pada kelompok uji dosis 2500 mg/kg BB terlihat bahwa pada hari ke-5, ke-6, ke-7 dan ke-10 terjadi perbedaan bermakna jika dibandingkan kontrol ($p < 0,05$). Pada kelompok uji dosis 5000 mg/kg BB terlihat pada hari ke-5 terjadi perbedaan bermakna jika dibandingkan kelompok kontrol ($p < 0,05$).



Gambar 5. Grafik bobot badan mencit jantan yang telah diberi sediaan ekstrak etanol simplisia sambiloto yang diradiasi 7,5 kGy



Gambar 6. Grafik bobot badan mencit betina yang telah diberi sediaan ekstrak etanol simplisia sambiloto yang diradiasi 7,5 kGy

Tabel 5. Analisis statistik perubahan bobot badan (%) mencit jantan yang diberi ekstrak sambiloto yang diiradiasi 7,5 kGy dibandingkan kontrol dengan menggunakan student t-test

Kelompok	Nilai P													
	Hari ke-2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	
Sampel B dosis 625 mg/kg BB	0,199	0,136	0,750	0,782	0,738	0,435	0,593	0,163	0,724	0,493	0,775	0,529	0,886	
Sampel B Dosis 1250 mg/kg BB	0,461	0,560	0,573	0,161	0,565	0,631	0,482	0,307	0,031*	0,781	0,632	0,710	0,326	
Sampel B dosis 2500 mg/kg BB	0,135	0,953	0,364	0,006*	0,009*	0,029*	0,224	0,661	0,003*	0,139	0,512	0,442	0,637	
Sampel B dosis 5000 mg/kg BB	0,135	0,714	0,278	0,011*	0,354	0,110	0,508	0,194	0,139	0,676	0,698	0,980	0,938	

Keterangan : $P < 0,05$ = Ada perbedaan yang bermakna (*); $P > 0,05$ = Tidak ada perbedaan yang bermakna

Tabel 6. Analisis statistik perubahan bobot badan (%) mencit betina yang diberi ekstrak sambiloto yang diiradiasi 7,5 kGy dibandingkan kontrol dengan menggunakan student t-test

Kelompok	Nilai P													
	Hari ke-2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	
Sampel B dosis 625 mg/kg BB	0,374	0,019*	0,126	0,053	0,871	0,279	0,505	0,413	0,108	0,036*	0,325	0,852	0,142	
Sampel B dosis 1250 mg/kg BB	0,583	0,028*	0,095	0,099	0,833	0,833	0,388	0,361	0,012*	0,165	0,373	0,560	0,575	
Sampel B dosis 2500 mg/kg BB	0,859	0,010*	0,149	0,045*	0,406	0,241	0,447	0,150	0,075	0,144	0,109	0,748	0,175	
Sampel B dosis 5000 mg/kg BB	0,953	0,299	0,219	0,028*	0,387	0,823	0,969	0,152	0,919	0,322	0,273	0,506	0,066	

Keterangan : $P < 0,05$ = Ada perbedaan yang bermakna (*); $P > 0,05$ = Tidak ada perbedaan yang bermakna

Hasil analisis statistik perbedaan bobot badan mencit betina menggunakan ANOVA menunjukkan perbedaan bermakna pada hari ke-3, hari ke-4 dan hari ke-10 menunjukkan adanya perbedaan bermakna antara kelompok kontrol dan kelompok dosis uji ($p < 0,05$). Hasil analisis lebih terperinci (Tabel 6) menggunakan student t-test menunjukkan kelompok dosis uji 625 mg/kg BB pada hari ke-3 dan ke-11 memiliki perbedaan bermakna jika dibandingkan kontrol ($p < 0,05$). Pada kelompok uji dosis 1250 mg/kg BB, hari ke-3 dan hari ke-10 menunjukkan perbedaan bermakna jika dibandingkan kelompok kontrol. Pada kelompok uji dosis 2500 mg/kg BB, hari ke-3 dan hari ke-5 menunjukkan terjadi perbedaan bermakna jika dibandingkan kelompok kontrol. Pada kelompok uji dosis 5000 mg/kg BB, hanya hari ke-5 yang mempunyai perbedaan bermakna jika dibandingkan kelompok kontrol ($p < 0,05$).

3.2.3. Efek pada organ.

Diagram batang indeks organ mencit jantan dapat dilihat pada Gambar 7 sedangkan diagram batang indeks organ mencit betina dapat dilihat pada Gambar 8. Indeks organ mencit jantan secara visual, pada jantung tidak terlihat kenaikan pada semua kelompok uji. Pada indeks hati, ginjal dan limpa, semua kelompok dosis terjadi peningkatan dibandingkan kontrol. Pada paru dan vesika, kenaikan hanya terjadi pada kelompok dosis 1250 mg/kg BB. Pada testis, kenaikan hanya terjadi pada kelompok uji dosis 625 mg/kg BB. Hasil analisis statistik menggunakan ANOVA menunjukkan bahwa pada mencit jantan, hati dan ginjal mem-

punyai perbedaan bermakna dibandingkan kontrol ($p < 0,05$). Hasil analisis lebih terperinci (Tabel 7) menggunakan uji-t menunjukkan bahwa pada ginjal kelompok dosis 625 mg/kg BB dan 5000 mg/kg BB mempunyai perbedaan bermakna dibandingkan kelompok kontrol ($p > 0,05$). Pada kelompok uji dosis 1250 mg/kg BB menunjukkan pada hati dan ginjal mempunyai perbedaan bermakna dibandingkan kelompok kontrol ($p < 0,05$). Pada kelompok uji dosis 2500 mg/kg BB terlihat bahwa tidak ada perbedaan bermakna jika dibandingkan kelompok kontrol ($p > 0,05$).

Indeks organ mencit betina dapat dilihat pada Gambar 8. Secara visual, pada jantung, hati, uterus dan limpa dapat terlihat bahwa terjadi kenaikan nilai indeks organ dari dosis uji 625 mg/kg BB hingga dosis uji 5000 mg/kg BB dan masih di bawah kelompok kontrol. Hasil analisis statistik menggunakan ANOVA menunjukkan bahwa pada mencit betina, jantung, hati, ginjal, limpa, adrenal, ovarium dan uterus tidak menunjukkan perbedaan yang bermakna ($p > 0,05$). Sedangkan pada paru mempunyai perbedaan bermakna dibandingkan kontrol ($p < 0,05$). Hasil analisis lebih terperinci (Tabel 8) menggunakan uji-t menunjukkan bahwa pada kelompok uji dosis 2500 mg/kg BB dan 5000 mg/kg BB tidak mempunyai perbedaan bermakna dibandingkan kontrol ($p > 0,05$). Pada kelompok uji dosis 625 mg/kg BB terlihat bahwa pada jantung, paru dan hati terjadi perbedaan bermakna dibandingkan kelompok kontrol ($p < 0,05$), sedangkan hasil analisis kelompok dosis uji 1250 mg/kg BB menunjukkan pada paru terjadi perbedaan bermakna jika dibandingkan kontrol ($p < 0,05$).

Tabel 7. Analisis statistik indeks organ mencit jantan yang diberi ekstrak sambiloto yang diiradiasi 7,5 kGy dibandingkan kontrol dengan menggunakan student t-test

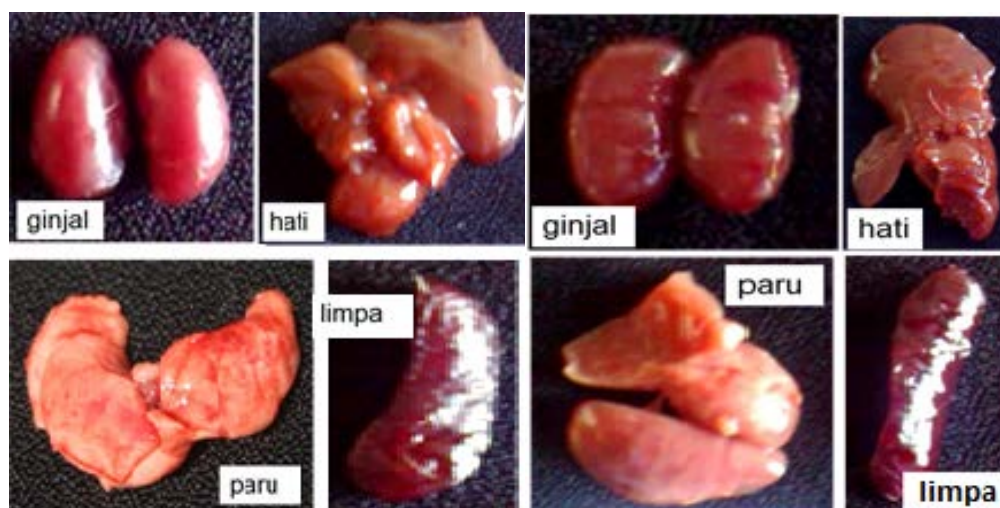
Kelompok	Nilai P							
	Jantung	Paru-paru	Hati	Sepasang Ginjal	Limpa	Sepasang Adrenal	Sepasang Testis	Vesica Seminalis
Sampel B dosis 625 mg/kg BB	0,246	0,917	0,057	0,032*	0,182	0,129	0,318	0,426
Sampel B dosis 1250 mg/kg BB	0,312	0,216	0,016*	0,009*	0,177	0,122	0,663	0,105
Sampel B dosis 2500 mg/kg BB	0,556	0,322	0,369	0,118	0,372	0,864	0,863	0,813
Sampel B dosis 5000 mg/kg BB	0,515	0,850	0,543	0,038*	0,266	0,239	0,664	0,967

Keterangan : $P < 0,05$ = Ada perbedaan yang bermakna (*); $P > 0,05$ = Tidak ada perbedaan yang bermakna

Tabel 8. Analisis statistik indeks organ mencit betina yang diberi ekstrak sambiloto yang diiradiasi 7,5 kGy dibandingkan kontrol dengan menggunakan student t-test

Kelompok	Nilai P							
	Jantung	Paru-paru	Hati	Sepasang Ginjal	Limpa	Sepasang Adrenal	Ovarium	Uterus
Sampel B dosis 625 mg/kg BB	0,019*	0,001*	0,039*	0,537	0,085	0,737	0,292	0,204
Sampel B dosis 1250 mg/kg BB	0,394	0,007*	0,186	0,344	0,239	0,715	0,716	0,407
Sampel B dosis 2500 mg/kg BB	0,263	0,050	0,271	0,876	0,803	0,373	0,435	0,478
Sampel B dosis 5000 mg/kg BB	0,294	0,292	0,526	0,458	0,820	0,931	0,810	0,974

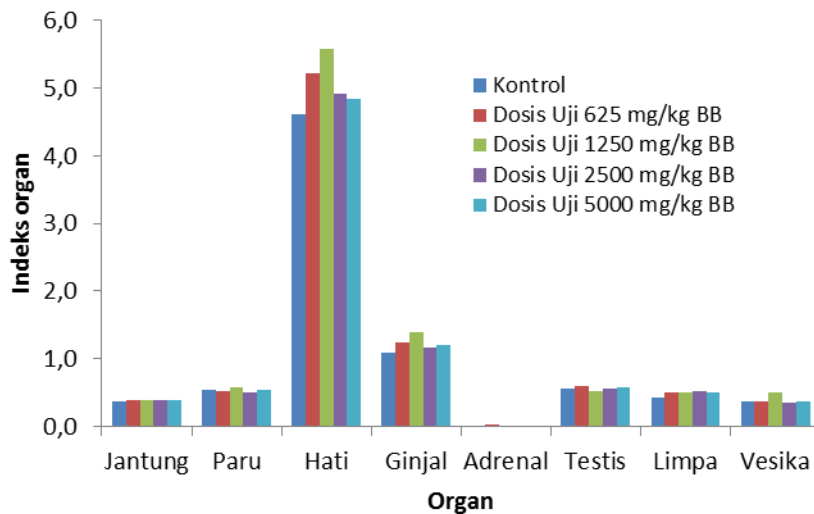
Keterangan : $P < 0,05$ = Ada perbedaan yang bermakna (*); $P > 0,05$ = Tidak ada perbedaan yang bermakna



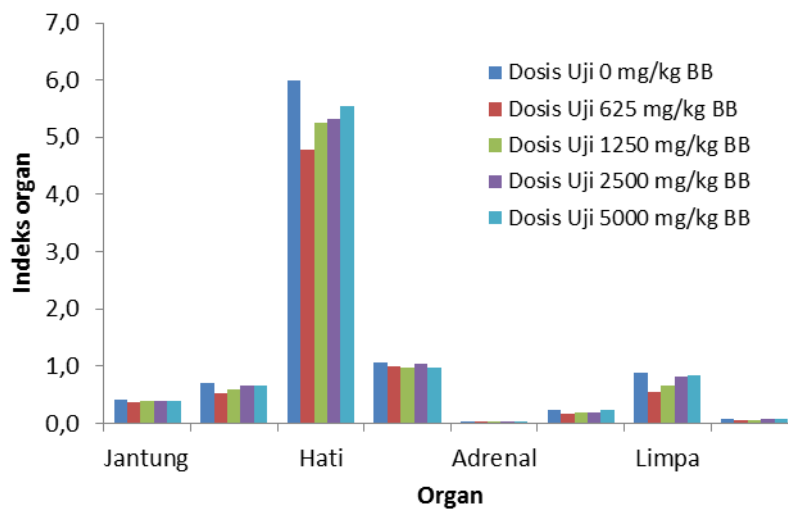
(a)

(b)

Gambar 10. Visualisasi organ hasil pembedahan mencit jantan perlakuan ekstrak etanol sambiloto yang tidak (a) dan yang diiradiasi (b) yang diberi bahan uji 5000 mg/kg BB



Gambar 7. Diagram batang indeks organ mencit jantan yang telah diberi sediaan ekstrak etanol simplisia sambiloto yang diradiasi 7,5 kGy



Gambar 8. Profil indeks organ mencit betina yang telah diberi sediaan ekstrak etanol simplisia sambiloto yang diradiasi 7,5 kGy

Berdasarkan pengamatan makroskopis, tidak terjadi perubahan warna pada organ ginjal, hati, paru dan limpa mencit baik jantan (Gambar 9) maupun betina (Gambar 10). Demikian juga tidak ada perbedaan warna antara organ-organ kelompok kontrol maupun kelompok yang diberi bahan uji 625 – 5000 mg/kg BB.

3.2.4 Kematian mencit.

Selama periode pengamatan (14 hari) setelah pemberian dosis tunggal ekstrak etanol daun sambiloto baik yang tidak maupun yang diradiasi 7,5 kGy sampai dosis 5000 mg/kg BB, tidak ada populasi mencit yang mati. Hasil uji ini menunjukkan bahwa pada dosis uji (625 mg/kg BB sampai 5000 mg/kg BB), sambiloto yang tidak maupun yang diradiasi 7,5 kGy tidak bersifat toksik.

3.2.5 Dosis letal 50 (DL₅₀)

Pada uji toksisitas akut tersebut, dosis tertinggi yang diuji adalah 5000 mg/kg BB dan sampai dosis uji tersebut tidak ada lebih dari 50% populasi mencit yang mati. Hasil uji ini memberi indikasi bahwa Dosis Letal 50 (DL₅₀) ekstrak etanol dari daun sambiloto baik yang tidak diradiasi maupun yang diradiasi 7,5 kGy > 5000 mg/kg BB.

Secara garis besar berdasarkan hasil yang diperoleh dari pemberian ekstrak etanol sambiloto yang diradiasi gamma (7,5 kGy) dan yang tidak diradiasi gamma se-cara oral menunjukkan hal yang serupa, yaitu ada perbedaan bermakna pada be-beberapa dosis uji yang digunakan, namun lebih banyak tidak menunjukkan adanya perbedaan yang bermakna akibat perlakuan. Hal ini menunjukkan bahwa pemberian oral bahan uji 5000 mg/kg BB tidak menimbulkan efek toksik pada hewan uji, didukung dengan tidak ditemukan hewan uji yang mati sampai hari ke 14. Perbedaan bermakna pada dosis uji tertinggi yaitu 5000 mg/kg BB dari bahan uji yang tidak diradiasi ditunjukkan pada hari ke-3 indeks organ hati. Pada dosis yang sama 5000 mg/kg BB dari bahan uji yang diradiasi gamma 7,5 kGy terjadi perbedaan bermakna pada organ ginjal hari ke-5. Secara keseluruhan nekrosis yang terjadi pada organ ginjal dan hati bersifat ringan menyebabkan degenerasi sel, namun diikuti dengan regenerasi sel hati dan ginjal. Demikian juga pengaruhnya pada perilaku hewan uji memberikan perubahan pada motoriknya dibandingkan terhadap kontrol (yang tidak diberi bahan uji), namun be-beberapa hari kemudian hewan uji kembali normal. Pemberian ekstrak etanol sambiloto uji

toksitas akut pada mencit hanya menimbulkan perubahan minimal pada hati dan ginjal pada dosis uji yang tinggi.

4. KESIMPULAN

Berdasarkan hasil pengujian toksisitas akut, tidak ditemukan adanya gejala toksik dan kematian mencit pada setiap tingkatan dosis 625-5000 mg/kg BB untuk kedua ekstrak yang diuji. Perubahan yang terjadi hanya menunjukkan suatu proses adaptasi terhadap stres setelah mengalami perlakuan. Berdasarkan pengamatan terhadap organ secara makroskopik untuk perlakuan kedua fraksi, tidak ditemukan adanya perubahan warna pada semua organ. Dari hasil tersebut, diperoleh nilai LD₅₀ untuk ekstrak etanol dari daun sambiloto yang tidak diradiasi dan yang diradiasi sebesar > 5000 mg/kg BB. Berdasarkan klasifikasi toksisitas relatif nilai toksisitas tersebut termasuk ke dalam kelompok praktis tidak toksik pada pemberian oral dosis tunggal. Oleh karena itu pada uji toksisitas ini, dosis uji tertinggi yang diuji adalah 5000 mg/kg BB mencit maka ekstrak etanol daun sambiloto baik yang tidak diradiasi maupun yang diradiasi 7,5 kGy dapat dinyatakan aman.

5. UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terimakasih kepada Sdr. Tjahyono, S.P. beserta seluruh staf Kelompok Iradiator – PAIR BATAN yang telah memberikan bantuan iradiasi sampel, dan Dr. Afifah B Sutjiatmo, M.S. beserta staf Laboratorium Farmakologi Pusat Ilmu Hayati ITB yang

telah membantu sehingga penelitian ini dapat diselesaikan dengan baik.

6. DAFTAR PUSTAKA

1. Katrin E, Susanto dan Winarno, H. Toksisitas akut ekstrak etanol temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.) iradiasi yang mempunyai aktivitas antikanker, *J. Aplikasi Isotop dan Radiasi*. 2011;7(1):41-52
2. Winarno H. Safety evaluation of the ethyl acetate extract on irradiated tea parasite: acute toxicity study on mice, *Jurnal Sains dan Teknologi Nuklir Indonesia Indonesian Journal of Nuclear Science and Technology*. 2011; XII(2):85-94
3. Wangboonskul J, Daodee S, Jarukamjorn K. and Sripanidkulchai BO. Pharmacokinetic study of *Andrographis paniculata* tablets in healthy Thai male volunteers, *Thai Pharm Health Sci J*, 2006;1(3):209-218.
4. Anju D, Jugnu G, Kavita S, Arun N, and Sandeep D. A review on medicinal prospective on *Andrographis Paniculata* Nees, *Journal of Pharmaceutical and Scientific Innovation*. 2012;1(1):1-4
5. Winarno H, Lestari IGAW, Susanto dan Katrin E. Kualitas sambiloto *Andrographis Paniculata* (Burm. F.) Nees yang telah diiradiasi, sedang dalam proses penyusunan.
6. Ostergaard NE and Larsen JC. Toxicological Risk Assessment of Chemicals: A Practical Guide, Informa Healthcare, New York, 2008:107-111.
7. Anonim. OECD – Guideline for testing of chemicals, Test No. 423 : Acute Oral Toxicity – Acute Toxic Class Method, adopted : 2001, December 17, 1-14. http://www.oecd-ilibrary.org/environment/oecd-guidelines-for-the-testing-of-chemicals-section-4-health-effects_20745788. Cited at April 6, 2011.
8. Michael F. W. Festing, M. F. W. And Altman, D. G. Guidelines for the design and statistical analysis of experiment using laboratory animals. *ILAR Journal*. 2002;40(4):244-258
9. Salawu OA, Chindo BA, Tijani AY, Obidike IC, and Salawu TA. Akingbasote JA, Acute and sub-acute toxicological evaluation of the methanolic stem bark extract of *Crossopteryx febrifuga* in rats. *Afr. J. Pharm. Pharmacol*. 2009, 3, 621-626.
10. Jothy SL, Zakaria Z, Chen Y, Lau YL, Latha LY, and Sasidharan S, Acute Oral Toxicity of Methanolic Seed Extract of *Cassia fistula* in Mice, *Molecules* 2011, 16, 5268-5282.

