

**UJI TOKSISITAS AKUT DAN SUBKRONIK DARI EKSTRAK RIMPANG  
KUNYIT (*Curcuma longa* Linn.) PADA TIKUS**

**Laporan Tugas Akhir**

**Siti Nurjanah  
11161169**



**Universitas Bhakti Kencana  
Fakultas Farmasi  
Program Strata I Farmasi  
Bandung  
2020**

**LEMBAR PENGESAHAN**

**UJI TOKSISITAS AKUT DAN SUBKRONIK DARI EKSTRAK RIMPANG  
KUNYIT (*Curcuma longa* Linn.) PADA TIKUS**

**Laporan Tugas Akhir**

Diajukan untuk memenuhi syarat kelulusan Program Strata I Farmasi

**Siti Nurjanah  
11161169**

Bandung, Agustus 2020

Menyetujui,

Pembimbing Utama,



(Dr. apt. Yani Mulyani, M.Si)

Pembimbing Serta,



(Dr. apt. Patonah, M.Si)

## ABSTRAK

### UJI TOKSISITAS AKUT DAN SUBKRONIK DARI EKSTRAK RIMPANG KUNYIT (*Curcuma longa* Linn.) PADA TIKUS

Oleh :

**Siti Nurjanah**

**11161169**

Toksisitas adalah suatu keadaan yang menandai adanya efek toksik atau racun yang terdapat pada suatu bahan, salah satunya rimpang kunyit yang merupakan tanaman obat tradisional yang berkhasiat untuk pengobatan antihipertrigliseridemia dan antihipertensi. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh toksisitas akut dan subkronik pada pemberian sediaan ekstrak rimpang kunyit (*Curcuma longa* L.). Metode pengujian toksisitas akut dan subkronik mengacu pada pedoman BPOM, dan OECD, dengan toksisitas akut pemberian dosis bertingkat yaitu dosis 300, 2000, 5000 mg/kgBB, dan toksisitas subkronik dengan pembagian 4 kelompok yaitu 1 kelompok kontrol negatif diberi CMC 0,5%, 3 kelompok perlakuan diberi sediaan ekstrak rimpang kunyit dengan dosis 50, 100, dan 200 mg/kgBB selama 28 hari. Hasil penelitian menunjukkan bahwa uji toksisitas akut ekstrak rimpang kunyit memiliki nilai LD<sub>50</sub> yaitu lebih dari 5000 mg/kgBB, dan tidak menimbulkan gejala toksik. Pada uji toksisitas subkronik, ekstrak rimpang kunyit dosis 50, 100, dan 200 mg/kgBB tidak menyebabkan toksik pada biokimia hati dan ginjal dilihat dari aktivitas SGOT, SGPT, nitrogen urea dan kreatinin yang masih berada dalam range normal. Pada profil hematologi terjadi kenaikan kadar hemoglobin, hematokrit, dan eritrosit yang membuktikan ekstrak rimpang kunyit tidak memiliki zat beracun yang dapat menyebabkan anemia atau kelainan lainnya, yang membuktikan bahwa ekstrak kunyit aman digunakan.

**Kata Kunci** : Rimpang Kunyit, Obat tradisional, Toksisitas Akut, Toksisitas Subkronik, LD<sub>50</sub>, Biokimia, Hematologi

## **ABSTRACT**

### **ACUTE AND SUBCHRONIC TOXICITY FROM THE EXTRACT OF TURMERIC (*Curcuma longa* Linn.) IN RATS**

**By :**

**Siti Nurjanah**

**11161169**

*Toxicity is a condition that indicates a toxic or toxic effect found in an ingredient, one of which is turmeric which is a traditional medicinal plant which is efficacious for the treatment of antihypertriglyceridemia and antihypertension. This study aims to determine the effect of acute and subchronic toxicity on the administration of turmeric (*Curcuma longa* L.) extracts. Acute and subchronic toxicity testing methods refer to the BPOM and OECD guidelines, with acute toxicity of multilevel doses of doses of 300, 2000, 5000 mg/kg body weight, and subchronic toxicity by dividing 4 groups: 1 negative control group was given 0.5% CMC, 3 treatment groups were given turmeric rhizome extract preparations at a dose of 50, 100, and 200 mg/kg body weight for 28 days. The results showed that the acute toxicity test for turmeric extract had an LD<sub>50</sub> value of more than 5000 mg/kg body weight, and did not cause toxic symptoms. In the subchronic toxicity test, turmeric rhizome extract at doses of 50, 100, and 200 mg/kg body weight did not cause toxic to the liver and kidney biochemistry seen from the activities of SGOT, SGPT, nitrogen urea and creatinine which were still in the normal range. In the hematological profile, there is an increase in hemoglobin, hematocrit, and erythrocyte levels, which proves that turmeric extract does not have toxic substances that can cause anemia or other abnormalities, which proves that turmeric extract is safe to use.*

**Keywords:** *Turmeric Rhizome, Traditional Medicine, Acute Toxicity, Subchronic Toxicity, LD<sub>50</sub>, Biochemistry, Hematology*

## KATA PENGANTAR

*Assalamualaikum Wr. Wb*

*Alhamulilahi robbil' alamin* Puji dan syukur penulis panjatkan kehadiran Allah SWT, karena berkat rahmat dan ridha-Nya penulis dapat menyelesaikan skripsi ini. Penyusunan skripsi ini bertujuan untuk memenuhi syarat untuk bisa mencapai gelar Sarjana Farmasi di Universitas Bhakti Kencana.

Penulis menyadari mengenai penulisan ini tidak bisa terealisasikan tanpa pihak-pihak yang mendukung baik secara materil dan moril. Maka, penulis mengucapkan banyak-banyak terimakasih kepada seluruh pihak yang telah membantu penulis dalam penyusunan skripsi ini terutama kepada :

1. Orang tua yang selalu mendukung dan memberikan semangat kepada penulis.
2. Ibu Dr.apr. Yani Mulyani, M.Si. dan ibu Dr.apr. Patonah Hasimun, M.Si. sebagai pembimbing atas bimbingan, saran, motivasi dan nasihatnya selama penelitian serta dalam penyusunan skripsi ini hingga dapat selesai dengan tepat waktu.
3. Bapak dan Ibu Dosen/Staf Pengajar Universitas Bhakti Kencana atas semua ilmu dan dukungan dalam penyusunan skripsi ini.
4. Teman-teman S1 angkatan 2016, terima kasih atas bantuan dan dukungan kalian selama ini dalam melalui berbagai proses pembelajaran di Universitas Bhakti Kencana.

Penulis menyadari bahwa skripsi yang penulis buat ini masih jauh dari sempurna hal ini karena terbatasnya pengetahuan dan pengalaman yang dimiliki penulis. Oleh sebab itu, penulis mengharapkan adanya saran dan masukan bahkan kritik membangun dari berbagai pihak. Besar harapan penulis agar skripsi ini dapat bermanfaat bagi penulis khususnya dan bagi pembaca umumnya.

Bandung, Agustus 2020

Siti Nurjanah

## DAFTAR ISI

ABSTRAK .....	iii
<i>ABSTRACT</i> .....	iv
KATA PENGANTAR.....	v
DAFTAR ISI .....	vi
DAFTAR TABEL .....	ix
DAFTAR GAMBAR.....	x
DAFTAR LAMPIRAN .....	xi
DAFTAR SINGKATAN DAN LAMBANG .....	xii
BAB I. PENDAHULUAN .....	1
1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	2
1.3 Tujuan dan Manfaat Penelitian .....	2
1.4 Hipotesis Penelitian .....	2
1.5 Tempat dan Waktu Penelitian.....	2
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA .....	3
2.1 Uji Non-klinik.....	3
2.2 Toksisitas .....	3
2.3 Uji Toksisitas .....	3
2.3.1 Uji Toksisitas Akut Oral.....	3
2.3.2 LD50.....	4
2.3.3 Uji Toksisitas Subkronis Oral .....	5
2.4 Metode Uji Toksisitas Organization for Economic Cooperation and Development (OECD) .....	5
2.4.1 Metode OECD 420 ( <i>Fixed Dose Procedure</i> ) .....	6
2.4.2 Metode OECD 407 ( <i>Repeat Dose 28 days</i> ).....	6
2.5.2 Kandungan senyawa kimia.....	8
2.5.3 Aktifitas Farmakologi Kunyit.....	9
BAB III. METODOLOGI PENELITIAN .....	11
3.1 Uji Toksisitas Akut .....	11
3.2 Uji Toksisitas Sub Kronik.....	11
BAB IV. PROSEDUR PENELITIAN .....	13
4.1 Perolehan Ekstrak .....	13
4.2 Determinasi .....	13

4.3	Skrining Fitokimia .....	13
4.3.1	Identifikasi Alkaloid .....	13
4.3.2	Identifikasi Flavonoid .....	13
4.3.3	Identifikasi Saponin .....	13
4.3.4	Identifikasi Tanin .....	14
4.3.5	Identifikasi Steroid .....	14
4.4	Standarisasi Ekstak .....	14
4.4.1	Penetapan Kadar Air .....	14
4.4.2	Penetapan Kadar Abu Total .....	15
4.4.3	Penetapan Kadar Abu Tak Larut Asam .....	15
4.4.3	Penetapan Kadar Sari Larut Etanol .....	15
4.4.4	Penetapan Kadar Sari Larut Air .....	15
4.5	Penyiapan Hewan Uji .....	16
4.6	Pembuatan Suspensi Na-CMC 0,5 % .....	16
4.7	Dosis Uji Toksisitas .....	16
4.7.1	Uji Toksisitas Akut .....	16
4.7.2	Uji Toksisitas Subkronik .....	16
4.8	Pengamatan gejala toksik .....	16
4.9	Metode Pengujian .....	17
4.10	Penentuan nilai LD <sub>50</sub> pada uji toksisitas akut .....	17
4.11	Uji Toksisitas Akut .....	18
4.12	Uji Toksisitas Subkronik .....	19
4.13	Penyiapan Sampel Darah .....	20
4.14	Pemeriksaan Biokimia .....	20
4.15	Pemeriksaan Hematologi .....	21
4.16	Nilai Indeks Organ .....	21
4.17	Analisis Data .....	21
<b>BAB V. HASIL DAN PEMBAHASAN .....</b>		<b>22</b>
5.1	Persetujuan Etik .....	22
5.2	Hasil Penelitian Tanaman Kunyit .....	22
5.2.1	Hasil Determinasi Rimpang Kunyit .....	22
5.2.2	Hasil Fitokimia Rimpang Kunyit .....	22
5.2.3	Karakterisasi rimpang kunyit .....	23
5.3	Hasil Uji Toksisitas Akut Ekstak Rimpang Kunyit .....	24
5.3.1	Hasil LD <sub>50</sub> .....	24

5.3.2	Hasil Monitoring Bobot badan Tikus .....	25
5.3.3	Hasil Pengamatan Gejala Toksik.....	26
5.3.4	Hasil Nilai Indeks Organ .....	26
5.3.5	Hasil Pemeriksaan Biokimia .....	27
5.4	Hasil Uji Toksisitas Subkronis Ekstrak Rimpang Kunyit .....	28
5.4.1	Hasil Monitoring Bobot badan Tikus .....	28
5.4.2	Hasil Nilai Indeks Organ .....	30
5.4.3	Pemeriksaan Biokimia.....	32
5.4.4	Pemeriksaan Hematologi.....	36
<b>BAB VI. SIMPULAN DAN SARAN .....</b>		<b>45</b>
6.1	Simpulan .....	45
6.2	Saran .....	45
<b>DAFTAR PUSTAKA.....</b>		<b>46</b>
<b>LAMPIRAN .....</b>		<b>50</b>



## DAFTAR TABEL

Tabel II. 1 Kriteria Penggolongan Sediaan Uji Menurut OECD (Pada Tikus) .....	4
Tabel II. 2 Kriteria Penggolongan Sediaan Uji .....	4
Tabel IV. 1 Hubungan Tanda-Tanda Keracunan Dengan Organ Tubuh Dan Sistem Saraf.....	16
Tabel V. 1 Hasil Uji Fitokimia Kimia Ekstrak Rimpang Kunyit .....	22
Tabel V. 2 Hasil Karakterisasi Ekstrak Rimpang Kunyit.....	23
Tabel V. 3 Hasil Persentase Kematian Hewan Uji Setelah Pemberian Sediaan Uji .....	24
Tabel V. 4 Bobot Badan Tikus Toksisitas Akut.....	25
Tabel V. 5 Tabel Gejala Ketoksikan .....	26
Tabel V. 6 Nilai Indeks Berat Organ Relatif Toksisitas Akut.....	26
Tabel V. 7 Pemeriksaan Biokimia Toksisitas Akut : SGOT, SGPT, Nitrogen urea, Kreatinin .....	27
Tabel V. 8 Bobot badan Tikus Jantan Toksisitas Subkronik.....	28
Tabel V. 9 Bobot Badan Tikus Betina Toksisitas Subkronik.....	29
Tabel V. 10 Nilai Indeks Organ Tikus Jantan Toksisitas Subkronik .....	30
Tabel V. 11 Nilai Indeks Organ Tikus Betina Toksisitas Subkronik .....	31
Tabel V. 12 Pemeriksaan Biokimia Toksisitas Subkronik : SGOT, SGPT, Nitrogen urea, Kreatinin .....	32
Tabel V. 13 Pemeriksaan Hematologi Toksisitas Subkronik .....	36

## DAFTAR GAMBAR

Gambar II. 1 Tanaman Kunyit.....	7
Gambar V. 1 Grafik Bobot Badan Tikus Betina Untuk Setiap Kelompok Perlakuan Selama 14 Hari .....	25
Gambar V. 2 Grafik Bobot Badan Tikus Jantan Untuk Setiap Kelompok Perlakuan Selama 28 Hari .....	28
Gambar V. 3 Grafik Bobot Badan Tikus Betina Untuk Setiap Kelompok Perlakuan Selama 28 Hari .....	30
Gambar V. 4 Diagram kadar kreatinin (mg/dL) untuk setiap kelompok perlakuan pada hari ke 29 .....	32
Gambar V. 5 Diagram Kadar Nitrogen Urea (mg/dL) Untuk Setiap Kelompok Perlakuan Pada Hari Ke 29.....	33
Gambar V. 6 Diagram Kadar SGOT (U/L) Untuk Setiap Kelompok Perlakuan Pada Hari Ke 29 .....	34
Gambar V. 7 Diagram Kadar SGPT (U/L) Untuk Setiap Kelompok Perlakuan Pada Hari Ke 29 .....	35
Gambar V. 8 Diagram kadar hemoglobin (g/dL) untuk setiap kelompok perlakuan pada hari ke 29 .....	37
Gambar V. 9 Diagram Kadar Hematokrit (%) Untuk Setiap Kelompok Perlakuan Pada Hari Ke 29 .....	38
Gambar V. 10 Diagram Kadar Leukosit ( $10^3/\mu\text{L}$ ) Untuk Setiap Kelompok Perlakuan Pada Hari Ke 29.....	39
Gambar V. 11 Diagram Kadar Trombosit ( $10^3/\mu\text{L}$ ) Untuk Setiap Kelompok Perlakuan Pada Hari Ke 29.....	40
Gambar V. 12 Diagram Kadar Eritrosit ( $10^6/\mu\text{L}$ ) Untuk Setiap Kelompok Perlakuan Pada Hari Ke 29.....	41
Gambar V. 13 Diagram Kadar Neutrofil Segmen (%) Untuk Setiap Kelompok Perlakuan Pada Hari Ke 29.....	42
Gambar V. 14 Diagram Kadar Limfosit (%) Untuk Setiap Kelompok Perlakuan Pada Hari Ke 29 .....	43

## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Surat Kode Etik Penelitian.....	50
Lampiran 2. Surat Determinasi Tanaman.....	51
Lampiran 3. Sertifikat Pengujian Ekstrak Rimpang Kunyit.....	52
Lampiran 4. Hewan Uji .....	53
Lampiran 5. Perlakuan Hewan Uji .....	54
Lampiran 6. Hasil Pemeriksaan Biokimia Toksisitas Akut.....	55
Lampiran 7. Hasil Nilai Indeks Organ Uji Toksisitas Akut .....	56
Lampiran 8. Bobot Badan Tikus Uji Toksisitas Akut .....	57
Lampiran 9. Hasil Pemeriksaan Biokimia Uji Toksisitas Subkronik.....	58
Lampiran 10. Hasil Pemeriksaan Hematologi Uji Toksisitas Subkronik.....	59
Lampiran 11. Pemeriksaan Hematologi Hitung Jenis Leukosit .....	60
Lampiran 12. Nilai Indeks Organ Uji Toksisitas Subkronik .....	61
Lampiran 13. Berat Badan Organ Uji Toksisitas Subkronik.....	63
Lampiran 14. Perhitungan Dosis .....	65

## DAFTAR SINGKATAN DAN LAMBANG

<b>SINGKATAN</b>	<b>MAKNA</b>
LD50	<i>Lethal dose 50</i>
OECD	Organization for Economic Cooperation and Development
BPOM	Badan Pengawas Obat Dan Makanan
CMC	<i>Carboxy Methyl Cellulosa</i>
SGOT	<i>Serum glutamat oksaloasetat transaminase</i>
SGPT	<i>Serum glutamat piruvat transaminase</i>
RBC	<i>Red Blood Cell</i>
WBC	<i>White Blood Cell</i>
MCV	<i>Mean Corpuscular Volume</i>
MCH	<i>Mean Corpuscular Hemoglobin</i>
MCHC	<i>Mean Corpuscular Hemoglobin Concentration</i>
K2EDTA	<i>Diposatium Ethylenediaminetetrasetic Acid</i>

## BAB I. PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Obat-obatan yang berasal dari tumbuhan telah lama digunakan dalam semua peradaban dan budaya. Oleh karenanya tanaman selalu memainkan peran penting dalam perawatan kesehatan di seluruh dunia. Pada negara berkembang, mode pengobatan herbal merupakan bagian dari budaya untuk pengobatan terapi tradisional. Tanaman yang digunakan dalam pengobatan tradisional memiliki peran penting dalam pemeliharaan kesehatan di seluruh dunia. Obat-obatan herbal, herbo-mineral, dan hewani telah digunakan sebagai pengobatan tradisional untuk menjaga kesehatan dan mengobati penyakit sejak jaman dahulu. Pengobatan tradisional telah lama dilakukan oleh beberapa bagian negara seperti Afrika dan Asia, termasuk India dan China, karena efek samping yang merugikan dari obat sintetik dan begitu pula resiko resistensi yang terjadi maka penggunaan obat tradisional menjadi populer di negara maju. Namun, survei terbaru telah menunjukkan bahwa tanaman obat juga memiliki efek samping. Hal ini menimbulkan kekhawatiran tentang efek toksik potensial yang disebabkan dari penggunaan tanaman obat tersebut. Oleh karena itu, dilakukan evaluasi dampak toksikologi dari setiap ekstrak tanaman obat untuk digunakan secara klinis atau Studi preklinis untuk penilaian mengenai efek toksik potensial. (Porwal dkk., 2017)

Tanaman obat yang masih sering digunakan oleh masyarakat Indonesia salah satunya adalah dari tanaman kunyit. Kunyit yang memiliki nama latin *Curcuma Longa* Linn atau *Curcuma Zingiberaceae*, telah lama dikenal oleh masyarakat sebagai tanaman yang sangat banyak manfaatnya untuk pengobatan (Winarsih dkk., 2012). Kunyit memiliki kandungan kurkuminoid yang terdiri dari kurkumin, desmetoksikumin, bidesmetoksikurkumin dan minyak atsiri dimana senyawa tersebut berkhasiat sebagai obat. Sedangkan kandungan pada rimpang kunyit adalah kurkumin, minyak atsiri, resin, desmetoksikurkumin, oleoresin, dan bidesmetoksikurkumin, damar, gom, lemak, protein, kalsium, fosfor dan besi. (Anand dkk., 2010). Kunyit memiliki beberapa aktivitas farmakologi yang dapat digunakan sebagai pengobatan yaitu anti-diabetes, hipolipidemik, anti-inflamasi, anti-diare, hepatoprotektif, anti-asma, obat anti-kanker (Vasavda, 2019) antihipertrigliseridemia (Patonah dkk., 2014) dan sebagai antihipertensi (Hasimun dkk., 2019).

Prevalensi penyakit hipertensi di Indonesia menurut data riskesdas 2018 yaitu pada penduduk usia 18 tahun sebesar 34,1%, tertinggi di Kalimantan Selatan (44,1%), sedangkan terendah di Papua sebesar (22,2%). Hipertensi terjadi pada kelompok umur 31-44 tahun (31,6%), umur 45-54 tahun (45,3%), umur 55-64 tahun (55,2%). (Kementrian Kesehatan RI, 2018). Dilihat dari data tersebut menandakan bahwa hipertensi adalah penyakit kardiovaskular yang paling umum diderita oleh masyarakat Indonesia, dimana sebenarnya hipertensi menjadi salah satu penyakit yang menyebabkan kematian tertinggi di dunia setiap tahunnya.

Kunyit memiliki khasiat sebagai antihipertensi maka keamanannya perlu dipastikan, karena masyarakat Indonesia telah banyak memanfaatkan kunyit untuk berbagai macam penyakit bahkan hampir setiap hari menggunakan kunyit sebagai bumbu masak bahkan kunyit sebagai komponen utama jamu tradisional di Indonesia. Sehingga perlu dipastikan keamanannya, karena penggunaan kunyit tidak dapat dipastikan aman atau toksik terutama pada hati karena terdapat sebanyak 64 kandungan senyawa di dalam kunyit yang diduga bersifat hepatotoksik (Balaji & Chempakam, 2010), selain itu juga karena hati merupakan target utama dari obat dan xenobiotik (Kim dkk., 2014), sehingga perlu adanya pengujian terkait toksisitas pada kunyit.

Oleh karena itu, kami melakukan pengujian yang bertujuan untuk mengetahui toksisitas akut dan subkronik selama 28 hari dari ekstrak rimpang kunyit untuk meningkatkan keselamatan masyarakat dalam mengobati berbagai penyakit.

## **1.2 Rumusan Masalah**

1. Berapakah nilai LD50 dari ekstrak kunyit (*Curcuma Longa.*) pada tikus?
2. Apa kategori toksisitas dari ekstrak kunyit (*Curcuma Longa*) pada tikus?
3. Apakah pemberian kunyit berulang dalam uji toksisitas subkronik aman?

## **1.3 Tujuan dan Manfaat Penelitian**

1. Mengetahui nilai LD50 ekstrak kunyit (*Curcuma Longa.*) pada tikus.
2. Mengetahui kategori toksisitas dari ekstrak kunyit (*Curcuma Longa*) pada tikus.
3. Menguji keamanan toksisitas subkronik ekstrak kunyit dengan pemberian berulang pada tikus.

## **1.4 Hipotesis Penelitian**

Diduga ekstrak etanol kunyit (*Curcuma longa*) aman digunakan

## **1.5 Tempat dan Waktu Penelitian**

1. Tempat : Laboratorium Farmakologi Universitas Bhakti Kencana
2. Waktu : Penelitian dilaksanakan pada bulan Januari hingga Maret 2020

## **BAB II. TINJAUAN PUSTAKA**

### **2.1 Uji Non-klinik**

Uji Non-klinik adalah studi biomedik yang tidak dilakukan pada subjek manusia yang meliputi pengujian *in vivo* dan *in vitro*, yang dilakukan sebelum uji klinik dan dapat dilanjutkan selama pengembangan klinik (uji toksisitas potensial) (BPOM, 2015).

### **2.2 Toksisitas**

Toksisitas adalah suatu keadaan yang menandai adanya efek toksik atau racun yang terdapat pada suatu bahan sebagai sediaan dosis tunggal atau campuran (Hodgson, 2010) dimana toksisitas ini merupakan kemampuan xenobiotik atau zat yang dapat menimbulkan kerusakan pada organisme baik saat digunakan dalam lingkungan (Priyanto, 2009).

### **2.3 Uji Toksisitas**

Uji toksisitas adalah suatu uji untuk mendeteksi efek toksik suatu zat pada sistem biologi dan untuk memperoleh data dosis-respon yang khas dari sediaan uji, sehingga pada penggunaannya dapat menentukan dosis yang sesuai untuk manusia karena data yang diperoleh adalah informasi mengenai derajat bahaya sediaan uji bila diberikan kepada manusia.

Uji toksisitas menggunakan hewan uji sebagai model berguna untuk melihat adanya reaksi biokimia, fisiologik dan patologik pada manusia terhadap suatu sediaan uji. Hasil uji toksisitas hanya dapat memberikan petunjuk adanya toksisitas relatif dan membantu identifikasi efek toksik bila terjadi pemaparan pada manusia (BPOM, 2014).

#### **2.3.1 Uji Toksisitas Akut Oral**

Uji toksisitas akut oral adalah suatu pengujian untuk mendeteksi efek toksik yang muncul dalam waktu singkat setelah pemberian sediaan uji yang diberikan secara oral dalam dosis tunggal, atau dosis berulang yang diberikan dalam waktu 24 jam.

Prinsip uji toksisitas akut oral yaitu, sediaan uji diberikan pada hewan uji dalam beberapa tingkatan dosis, kemudian dilakukan pengamatan terhadap adanya efek toksik dan kematian. Hewan yang mati selama percobaan dan yang hidup sampai akhir percobaan diotopsi untuk dievaluasi adanya gejala-gejala toksisitas.

Tujuan uji toksisitas akut oral adalah untuk mendeteksi toksisitas intrinsik suatu zat dalam sediaan uji, menentukan organ sasaran, kepekaan spesies, memperoleh

informasi bahaya setelah pemaparan suatu zat dalam sediaan uji secara akut, memperoleh informasi awal yang dapat digunakan untuk menetapkan tingkat dosis, merancang uji toksisitas selanjutnya, memperoleh nilai LD50 suatu bahan/ sediaan, serta penentuan penggolongan bahan/ sediaan dan pelabelan. Pada awalnya toksistas akut diuji menggunakan metode konvensional, namun metode ini mempunyai kelemahan yaitu hewan uji yang dibutuhkan dalam menentukan parameter akhir cukup banyak, dimana bertentangan dengan *animal welfare*. Oleh karena itu pada tahun 1984 telah dibuat metode alternatif dimana hewan yang digunakan jumlahnya lebih sedikit yaitu metode *Up and Down Procedure*, *Fixed Dose Method* dan *Toxic Class Method*.

Kriteria penggolongan menurut OECD (2001) digunakan untuk penentuan kategori toksisitas akut bahan kimia seperti pestisida serta untuk pelabelannya. (BPOM, 2014)

**Tabel II. 1 Kriteria Penggolongan Sediaan Uji Menurut OECD (Pada Tikus)**

Dosis (mg/kgBB)	Kematian	Kategori
5	≥2 dari 5 ekor mati	1
5	≥1 ekor menunjukkan gejala toksisitas dan tidak ada kematian	2
50	≥2 dari 5 ekor mati	2
50	≥1 ekor dengan gejala toksisitas dan tidak ada kematian	3
300	≥2 ekor dari 5 ekor mai	3
300	≥1 ekor dengan gejala toksisitas dan atau < 1 mati	4
2000	≥2 dari 5 ekor mati	4
2000	≥1 ekor dengan gejala toksisitas dan atau tidak ada kematian	5
2000	Tidak ada gejala toksisitas	5/unclassified

Sumber :(OECD, 2001)

### 2.3.2 LD50

*Lethal dose 50* adalah dosis yang dapat menyebabkan kematian hewan uji sebanyak 50% ketika diberikan melalui rute oral (Hodgson, 2010). Nilai LD50 dinyatakan dalam dalam hal berat zat uji per satuan berat hewan uji (mg / kg). (OECD, 1992)

**Tabel II. 2 Kriteria Penggolongan Sediaan Uji**

Tingkat Toksisitas	LD50 oral (pada tikus)	Klasifikasi
1	≤1 mg/kgBB	Sangat toksik
2	1-50 mg	Toksik



3	50-500 mg	Toksik sedang
4	500-5000mg	Toksik ringan
5	5-15 g	Praktis tidak toksik
6	$\geq 15$ g	Relatif tidak membahayakan

Sumber : (Hodge & Sterner, 2005)

### 2.3.3 Uji Toksisitas Subkronis Oral

Uji toksisitas subkronis oral adalah suatu pengujian untuk mendeteksi efek toksik yang muncul setelah pemberian sediaan uji dengan dosis berulang yang diberikan secara oral pada hewan uji selama sebagian umur hewan, tetapi tidak lebih dari 10% seluruh umur hewan.

Prinsip dari uji toksisitas subkronis oral yaitu dengan memberikan sediaan uji setiap hari dalam beberapa tingkat dosis pada beberapa kelompok hewan uji dengan satu dosis per kelompok selama 28 atau 90 hari, bila diperlukan ditambahkan kelompok satelit untuk melihat adanya efek tertunda atau efek yang bersifat *reversibel*. Selama waktu pemberian sediaan uji, hewan harus diamati setiap hari untuk menentukan adanya toksisitas. Apabila hewan yang mati selama pemberian sediaan uji namun belum melewati periode *rigor mortis* (terjadi kekakuan pada tubuh hewan) segera dibedah lalu organ serta jaringan diamati secara makropatologi dan histopatologi. Pada akhir periode pemberian sediaan uji, semua hewan yang masih hidup diotopsi selanjutnya dilakukan pengamatan secara makropatologi pada setiap organ dan jaringan. Selain itu juga dilakukan pemeriksaan hematologi, biokimia klinis dan histopatologi.

Tujuan uji toksisitas subkronis oral adalah untuk memperoleh informasi adanya efek toksik zat yang tidak terdeteksi pada uji toksisitas akut; informasi kemungkinan adanya efek toksik setelah pemaparan sediaan uji secara berulang dalam jangka waktu tertentu; informasi dosis yang tidak menimbulkan efek toksik (*No Observed Adverse Effect Level / NOAEL*); dan mempelajari adanya efek kumulatif dan efek reversibilitas zat tersebut. (BPOM, 2014)

## 2.4 Metode Uji Toksisitas Organization for Economic Cooperation and Development (OECD)

Metode uji toksisitas akut telah dipublikasikan oleh OECD dan masing masing metode ini memiliki kekurangan dan kelebihan. Pedoman uji toksisitas akut oral pertama kali dikeluarkan oleh OECD adalah metode standar 401 (Toksisitas Akut Oral : metode konvensional) kelemahan dari metode ini adalah menggunakan banyak hewan

uji dimana bertentangan dengan *animal welfare* sehingga metode ini dihapus oleh OECD pada bulan desember 2002 dan tidak digunakan lagi. (BPOM, 2014)

Metode 401 dihapus dan OECD mempublikasikan beberapa metode standar baru untuk pengujian toksisitas akut oral dimana hewan yang digunakan jumlahnya lebih sedikit yaitu yaitu metode *Up and Down Procedure* (425), *Fixed Dose Procedure*(420) dan *Toxic Class Method* (423). Sedangkan metode uji toksisitas sub kronik oral yang dikeluarkan oleh OECD yaitu 407 (*Repeat Dose 28 days*) dan 408 (*Repeat Dose 90 days*)

#### **2.4.1 Metode OECD 420 (*Fixed Dose Procedure*)**

Pengujian pada metode ini dosis telah ditetapkan dimulai dari 5, 50, 300, dan 2000 mg/kgBB (dosis ditingkatkan menjadi 5000 mg / kg dapat dipertimbangkan) dengan 5 hewan uji tiap kelompok. Sebelum dilakukan uji utama, dilakukan uji pendahuluan terlebih dahulu untuk menentukan dosis awal menggunakan satu hewan uji pada tiap dosis. Dosis awal yang digunakan dimulai dari dosis yang menunjukkan tanda keracunan tanpa efek kematian, jika tidak ada maka dimulai dari 300 mg/kgBB. Pemberian dosis selanjutnya bisa lebih tinggi atau lebih rendah berdasarkan tanda kesakitan. (OECD, 1992)

#### **2.4.2 Metode OECD 407 (*Repeat Dose 28 days*)**

Substansi uji diberikan secara oral setiap hari dalam dosis bertahap ke beberapa kelompok hewan percobaan, satu tingkat dosis per kelompok selama periode 28 hari. Penelitian 28 hari memberikan informasi tentang efek paparan oral berulang dan dapat menunjukkan perlunya studi jangka panjang lebih lanjut dan juga dapat memberikan informasi tentang pemilihan konsentrasi untuk studi jangka panjang. Bila pada dosis 1000 mg/kgBB berat badan tidak dihasilkan efek toksik, dosis tidak perlu dinaikkan lagi. Data yang diperoleh juga untuk mengetahui informasi adanya kemungkinan adanya efek toksik setelah pemaparan sediaan uji secara berulang dalam jangka waktu tertentu; informasi dosis yang tidak menimbulkan efek toksik (*No Observed Adverse Effect Level / NOAEL*); dan mempelajari adanya efek kumulatif dan efek reversibilitas zat tersebut. (OECD, 2008)

### **2.5 Uraian tanaman**



**Gambar II. 1 Tanaman Kunyit**

Sumber : (Prasad- Yadav R. y Tarun G., 2017)

Scientific Name : *Curcuma Longa*  
 Nama indonesia : kunyit  
 Kingdom : Plantae  
 Subkingdom : Tracheobionta -Vascular plants  
 Superdivision : Spermatophyta  
 Division : Magnoliophyta – Flowering plants  
 Class : Lilliopsida- monocotyledons  
 Subclass : Zingiberidae  
 Order : Zingiberales  
 Family : Zingiberaceae– Ginger family  
 Genus : Curcuma L.- curcuma  
 Species : *Curcuma Longa* L. –common turmeric (Prasad- Yadav R. y Tarun G., 2017)

### 2.5.1 Morfologi Kunyit

#### 1) Batang

Kunyit memiliki batang semu yang tersusun dari kelopak atau pelepah daun yang saling menutupi. Batang kunyit bersifat basah karena mampu menyimpan air dengan baik, berbentuk bulat dan berwarna hijau keunguan. Tinggi batang kunyit mencapai 0,75 – 1 m (Winarto & Lentera, 2004).

#### 2) Daun

Daun kunyit tersusun dari pelepah daun, gagang daun dan helai daun. Panjang helai daun antara 31 – 83 cm. lebar daun antara 10 – 18 cm. Daun kunyit berbentuk bulat telur memanjang dengan permukaan agak kasar. Pertulangan daun rata dan ujung meruncing atau melengkung menyerupai ekor. Permukaan daun berwarna hijau muda. Satu tanaman mempunyai 6 – 10 daun (Winarto & Lentera, 2004)

#### 3) Bunga

Bunga kunyit berbentuk kerucut runcing berwarna putih atau kuning muda dengan pangkal berwarna putih. Setiap bunga mempunyai tiga lembar kelopak bunga, tiga lembar tajuk bunga dan empat helai benang sari. Salah satu dari keempat benang sari itu berfungsi sebagai alat pembiakan. Sementara itu, ketiga benang sari lainnya berubah bentuk menjadi heli mahkota bunga (Winarto & Lentera, 2004)

#### 4) Rimpang

Rimpang kunyit bercabang – cabang sehingga membentuk rimpun. Rimpang berbentuk bulat panjang dan membentuk cabang rimpang berupa batang yang berada didalam tanah. Rimpang kunyit terdiri dari rimpang induk atau umbi kunyit dan tunas atau cabang rimpang. Rimpang utama ini biasanya ditumbuhi tunas yang tumbuh kearah samping, mendatar, atau melengkung. Tunas berbuku – buku pendek, lurus atau melengkung. Jumlah tunas umunya banyak. Tinggi anakan mencapai 10,85 cm (Winarto & Lentera, 2004)

Warna kulit rimpang jingga kecoklatan atau berwarna terang agak kuning kehitaman. Warna daging rimpangnya jingga kekuningan dilengkapi dengan bau khas yang rasanya agak pahit dan pedas. Rimpang cabang tanaman kunyit akan berkembang secara terus menerus membentuk cabang – cabang baru dan batang semu, sehingga berbentuk sebuah rumpun. Lebar rumpun mencapai 24,10 cm. panjang rimpang bias mencapai 22,5 cm. tebal rimpang yang tua 4,06 cm dan rimpang muda 1,61 cm. rimpang kunyit yang sudah besar dan tua merupakan bagian yang dominan sebagai obat (Winarto & Lentera, 2004)

### 2.5.2 Kandungan senyawa kimia

Kunyit mengandung senyawa yang berkhasiat sebagai obat, yaitu kurkuminoid yang terdiri dari kurkumin, 10% desmetoksikumin, 1-5% bidesmetoksikurkumin dan zat- zat manfaat lainnya seperti minyak atsiri yang terdiri dari (keton sesquiterpen, turmeron, tumeon 60%, zingiberen 25%, felandren, sabinen, borneol dan sineil). Sedangkan kandungan pada rimpang kunyit adalah kurkumin, minyak atsiri, resin, desmetoksikurkumin, oleoresin, dan bidesmetoksikurkumin, damar, gom, lemak, protein, kalsium, fosfor dan besi. Dan minyak atsiri kunyit terdiri dari *artumeron*, *α* dan *β*-*tumeron*, *tumerol*, *α*-*atlanton*, *β*-*kariofilen*, *linalol* dan *1,8 sineol*. Kurkumin (*diferuloylmethane*) (3–4%) merupakan komponen aktif dari kunyit yang berperan

untuk menghasilkan warna kuning, dan terdiri dari kurkumin I (94%), kurkumin II (6%) dan kurkumin III (0.3%) (Anand dkk., 2010).

### **2.5.3 Aktifitas Farmakologi Kunyit**

Kunyit memiliki beberapa aktivitas farmakologi yang dapat digunakan sebagai pengobatan diantaranya yaitu anti-diabetes, hipolipidemik, anti-inflamasi, anti-diare, hepatoprotektif, anti-asma, obat anti-kanker (Vasavda, 2019) antihipertrigliseridemia (Patonah dkk., 2014) dan sebagai antihipertensi (Patonah dkk., 2019).

### **2.5.4 Etik Pada Penggunaan Hewan Coba**

Sebagai upaya untuk meningkatkan standar etik pada penggunaan hewan coba, sejak 1980, digunakan konsep 3R (Replacement, Reduction, Refinement). Konsep 3R adalah sarana untuk menghilangkan segi-segi yang tidak “manusiawi” (inhumane) pada penggunaan hewan coba, dan telah memberi dasar bagi perumusan peraturan perundang-undangan di beberapa wilayah dan negara di dunia, termasuk Indonesia. (UU RI No.18 Bab IV, 2009)

Konsep 3R menyediakan kerangka kerja untuk meningkatkan mutu pelaksanaan percobaan hewan dan pembenaran etikanya. Jika untuk membuktikan suatu hipotesis diperlukan penggunaan hewan coba, maka harus dicoba dimulai dengan menggunakan hewan yang paling rendah tingkatannya atau apabila memungkinkan cukup digantikan dengan metoda in-vitro (biakan sel ataupun jaringan) atau simulasi komputer (replacement). Walaupun banyak metoda in-vitro yang dapat digunakan, tetapi tidak semuanya sudah divalidasi dan menunjukkan hasil yang sama dengan metoda in-vivo. Jika tidak ada pilihan lain dan harus menggunakan hewan coba, maka harus dikaji dengan baik jumlah hewan yang akan digunakan. Peneliti tidak dapat semauanya menggunakan jumlah hewan yang banyak untuk mendapatkan power statistik yang tinggi. Jumlah hewan harus dikaji dengan menggunakan berbagai macam perhitungan sehingga digunakan jumlah hewan yang sedikit (reduction) tanpa menghilangkan kesahihan penelitian. Upaya tersebut adalah yang disebut sebagai reduction. Setelah itu tahap refinement, pada tahap ini peneliti ataupun pengguna hewan coba harus memperhatikan perlakuan yang akan digunakan pada hewan cobanya. Perlakuan

tersebut harus berdasarkan azas kesejahteraan hewan (*animal welfare*) yaitu 5 *Freedom*s (5F):

- *Freedom from hunger and thirst* (bebas dari rasa lapar dan haus)
  - *Freedom from pain* (bebas dari rasa nyeri)
  - *Freedom from distress and feeling discomfort* (bebas dari stres dan rasa tidak nyaman)
  - *Freedom from injury and diseases* (bebas dari luka dan penyakit)
  - *Freedom to express their normal behavior* (bebas berperilaku normal untuk hewan)
- (Kementrian Kesehatan RI, 2017)