

Jurnal Pharmascience, Vol. 9, No. 2, Oktober 2022, hal: 234-247
 ISSN-Print. 2355 – 5386
 ISSN-Online. 2460-9560
<https://ppjp.ulm.ac.id/journal/index.php/pharmascience>
 Research Article

Hasil Uji Toksisitas Subkronis Temulawak Terhadap Nilai Hemoglobin, Hematokrit, dan Leukosit Tikus

Akhmad Endang Zainal Hasan*, Husnawati Husnawati, Siti Wachidatun Zulaikha

Department of Biochemistry, Faculty of Mathematics and Natural Sciences, IPB University,
 Bogor, West Java, Indonesia
 Email: zainalhasan@apps.ipb.ac.id

ABSTRAK

Herbal yang berperan sebagai antioksidan dan antikanker diantaranya temulawak. Penelitian pengaruh ekstrak temulawak terhadap hematologi tikus pada pengujian keamanan subkronis dilakukan pada penelitian ini. Parameter hematologi yang ditentukan adalah nilai hemoglobin, hematokrit, dan jumlah leukosit. Hewan coba yang digunakan adalah tikus jantan dan betina dari galur *Sprague Dawley*. Herbal yang diberikan sebagai pengobatan adalah ekstrak etanol 70% temulawak yang diberikan sebanyak 5 hari dalam seminggu selama 28 hari dengan dosis bertingkat mulai dari 45 mg/Kg BB hingga 5.625 mg/kg BB. Hasil yang diperoleh adalah perlakuan terakhir tidak ada tikus yang mati. Berdasarkan pengukuran diperoleh nilai hemoglobin antara 12,57-17,97 g/dL, nilai hematokrit antara 31,77-51,57%, dan jumlah leukosit antara $5,01-23,22 \times 10^3$ sel/ μ L (normal). Kesimpulan dari penelitian ini adalah bahwa dosis lebih besar dari 5625 mg/kg BB merupakan nilai LD₅₀ untuk ekstrak etanol 70% temulawak. Pemberian ekstrak etanol 70% temulawak hingga dosis 5.625 mg/kg BB selama 28 hari pada tikus jantan dan betina memberikan efek penurunan terhadap nilai hemoglobin, hematokrit, dan leukosit, namun nilainya masih dalam batas normal. Tidak ada perbedaan nyata antara tikus jantan dan betina pada hasil pengukuran nilai hemoglobin, hematokrit, dan leukosit.

Kata Kunci: Dosis, Hematologi, Subkronis, Temulawak, Tikus

ABSTRACT

Herbs that act as antioxidants and anticancer include temulawak. Research on the effect of temulawak extract on rat hematology in subchronic safety testing was carried out in this study. The determined hematological parameters were the value of hemoglobin, hematocrit and the number of leukocytes. The experimental animals used were male and female rats from the Sprague Dawley strain. The herbs given as treatment were an ethanolic

extract of 70% temulawak which was given 5 days a week for 28 days with a graduated dose ranging from 45 mg/Kg BW to 5625 mg/kg BW. The results obtained are the last treatment no rat died. Based on the measurement of hemoglobin values obtained between 12.57 to 17.97 g/dL, hematocrit values obtained between 31.77 to 51.57% and leukocyte counts obtained between 5.01 to 23.22x10³ cells/ μ L were still in the normal range. The conclusion of this study is that a dose greater than 5,625 mg/kg BW is the LD50 value for the ethanol extract of 70% temulawak. Giving 70% ethanol extract of temulawak until a dose of 5,625 mg/kg BW for 28 days to male and female rats had a decreasing effect on hemoglobin, hematocrit, and leukocyte values, but the values were still within normal limits. There is no significant difference between male and female rats in the measurement results of hemoglobin, hematocrit, and leukocyte values.

Keywords: Dose, Hematology, Rats, Subchronic, Temulawak

I. PENDAHULUAN

Penggunaan herbal sebagai obat tradisional mengalami peningkatan berbarengan dengan meningkatnya pengetahuan masyarakat terhadap efek samping dari obat sintetik (Adipratama 2009). Menurut Linda *et al.* (2014), masyarakat mencari alternatif pengobatan dengan menggunakan tumbuhan dalam menyembuhkan penyakitnya. Penggunaan tumbuhan obat yang tidak tepat dapat berpotensi menimbulkan efek samping yang dapat merugikan tubuh. Uji toksisitas perlu dilakukan untuk mendeteksi adanya efek toksik terhadap pemakaian tumbuhan obat. Pengujian toksisitas terhadap hewan coba dilakukan untuk menjamin keamanan ketika diaplikasikan pada manusia. Tahapan pengujian toksisitas dimulai dari akut, subkronis, dan kronis (BPOM 2014).

Famili tumbuhan obat terbanyak berasal dari kelompok Zingiberaceae. Sebagian besar tumbuhan tersebut digunakan untuk mempertahankan daya

tahan tubuh, mengurangi gangguan pencernaan, dan gangguan pada pernafasan (Nisa dan Astana 2018). Temulawak merupakan tanaman obat yang memiliki banyak kegunaan dan membuat tanaman ini terkenal. Seperti pada umumnya kelompok Zingiberaceae, kandungan kurkumin atau kurkuminoid merupakan bahan aktif utama (Cahyono *et al.*, 2011). Namun dalam temulawak kandungan xanthorizol merupakan komponen paling utama, selain kurkumin tersebut (Purwakusumah *et al.*, 2016).

Xanthorhizol merupakan komponen terpenoid yang berperan sebagai antikanker, anti-inflamatori, antimikrobal antihiperlipidemia, antioksidan, antihipertensi, berpengaruh terhadap estrogenik dan antiestrogenik (Oon *et al.*, 2015). Secara tersendiri xanthorizol ini juga berperan sebagai antiproliferasi (Noomhorm *et al.*, 2014). Menurut Anggakusuma *et al.* (2009), aktivitas luciferase Gal-4/ER ditingkatkan oleh

xanthorrhizol dan menginduksi interaksi ER-estrogen response element (ERE) endogen di sel MCF-7, dan xanthorrhizol secara signifikan meningkatkan ekspresi gen pS2. Penelitian lain yang dilakukan oleh Cheah *et al.* (2006) menunjukkan bahwa xanthorrhizol dapat meninduksi apoptosis pada protein bcl-2 PARP-1 dan p53 sehingga bersifat sebagai antiproliferatif pada sel MCF-7.

Kurkumin digunakan dalam berbagai obat yang berpotensi sebagai antioksidan, antiinflamasi, antibakteri, antivirus, antijamur, antitumor, dan hepatoprotektif (Anggoro *et al.*, 2015). Menurut Farida *et al.* (2018), dalam penelitian yang menggunakan metode penghambatan denaturasi protein disimpulkan bahwa ekstrak temulawak mempunyai aktivitas antiinflamasi. Ekstrak kurkuminoid temulawak memiliki LC_{50} lebih kecil dari 1000 $\mu\text{g/mL}$ yaitu sebesar 213,24 $\mu\text{g/mL}$ (Riki *et al.*, 2017a) dan mampu menghambat pertumbuhan sel HeLa, sehingga berpotensi sebagai obat antikanker serviks (Riki *et al.*, 2017b). Ekstrak temulawak tergolong sebagai antioksidan yang bagus karena memiliki aktivitas sebesar 87,01 $\mu\text{g/mL}$ (Rosidi *et al.*, 2017). Peran kurkumin sebagai antikanker telah dijelaskan oleh (Wang *et al.*, 2016). Target kerja kurkumin dalam mengatasi kanker diuraikan oleh (Song *et al.*, 2019). Peran kurkumin dalam bentuk

nanopartikel sebagai antikanker telah diuraikan oleh Ombredane *et al.* (2021). Secara rinci, Mansouri *et al.* (2020) menguraikan peran kurkumin sebagai senyawa yang dapat digunakan dalam pengujian secara klinis pada manusia dalam mengatasi kanker. Penggunaan kurkumin ini menjadikan kemotrapi kanker akan menjadi efisien (Farghadani & Naidu, 2022).

Sesuai dengan tahapan mengujian dalam rangka penilaian suatu bahan dapat digunakan sebagai obat, BPOM (2014) memberikan tahapan uji akut, subkronis dan kronis. Pada pengujian secara akut akan diperoleh dosis letal median (LD_{50}), sedangkan pengujian subkronis akan terlihat peran bahan dalam mengganggu komponen lain dalam tubuh sehingga penggunaan bahan tersebut aman dalam rentang waktu pengujian (BPOM, 2014). Belum terdapat riset terkait efek toksisitas subkronis ekstrak etanol 70% temulawak hasil produksi skala industri terhadap hematologi tikus. Walaupun pengujian terhadap mencit sudah pernah dilakukan oleh (Listyawati, 2006). Oleh karena itu penentuan keamanan akut dan subkronis dilakukan dari ekstrak etanol 70% temulawak. Dengan menggunakan tikus *Sprague Dawley* jantan dan betina diamati nilai hemoglobin, hematokrit, dan jumlah leukosit.

II. METODE

A. Bahan

Tikus sebagai hewan uji yang digunakan adalah dari *Sprague Dawley* berbobot badan sekitar 150-200 gram diperkirakan berusia sekitar 8 minggu. pakan merk *HI-PRO-VITE*, ketamin-xylazin, ekstrak etanol 70% temulawak yang telah terstandar oleh PT. Phytochemindo Reksa, CMC 1%, dan bahan lain untuk pengujian hemoglobin, hematokrit, dan leukosit.

B. Preparasi Sampel

Ekstrak temulawak yang telah terstandar diperoleh dari PT. Phytochemindo Reksa. Preparasi sampel dilakukan di Laboratorium Penelitian Biokimia. Ekstrak temulawak dibuat dengan dosis 45, 225, 1125, dan 5625 mg/kg bobot badan.

C. Perlakuan Hewan Coba

Persiapan hewan coba mulai dari pemeriksaan dan siap untuk dilakukan pengujian disesuaikan dengan aturan (BPOM, 2014). Setelah dilakukan aklimatisasi tikus dilakukan perlakuan sesuai dengan dosis yang diberikan. Pemberian sampel dilakukan 5 hari dalam seminggu secara berturut-turut menggunakan sonde yang diberikan secara oral. Penelitian sudah memperoleh

persetujuan dari Komisi Etik IPB dengan nomor 174-2020 IPB.

Pengamatan gejala klinis dilakukan setiap terhadap sistem kardiovaskuler, pernafasan, mata, dan bulu. Pengamatan lain adalah melihat gejala toksik atau terjadinya kematian. Perhitungan LD₅₀ diperoleh dari jumlah tikus yang mengalami kematian dalam waktu 24 jam.

D. Penentuan Hematologi Darah

Pengambilan darah tikus dilakukan sesuai dengan petunjuk dalam Hasan *et al.* (2016), dengan melakukan pengambilan pada hari ke-0, 7, 28, dan 42 (kelompok satelit).

Pengukuran hemoglobin, hematokrit, dan leukosit menggunakan alat *Hematology Analyzer Abaxis HM5*. Pengukuran hemoglobin berdasarkan absorbansi cahaya oleh foto detektor, sedangkan pengukuran hematokrit dan leukosit menggunakan prinsip flowsitometri (*Hematology Analyzer Abaxis HM5*).

E. Analisis Data (Farida *et al.*, 2018)

Data yang diperoleh dilakukan analisis menggunakan ANOVA pada taraf kepercayaan 5% ($\alpha=0.05$). Kelompok yang berbeda diuji lanjutan dengan uji Duncan.

III. HASIL DAN PEMBAHASAN

Gejala klinis pada tikus diamati pada 24 jam (H0) dan hari pengamatan ke-7 (H7). Gejala klinis yang muncul pada H0 adalah semua tikus berperilaku aktif, mata merah muda menyala, dan bulu lebat putih halus (Tabel I). Hasil pengamatan pada H7 menunjukkan kelompok dosis 1, 2, dan 3 tidak menunjukkan gejala toksik karena kenampakannya sama dengan kelompok

normal, sedangkan untuk dosis 4 dan satelit menunjukkan gejala yang berbeda dengan kelompok normal. Gejala klinis yang muncul pada kelompok dosis 4 dan satelit yaitu penurunan keaktifan tikus dan bulu yang mengusam berwarna kekuningan disertai kerontokan rambut pada beberapa bagian. Gejala klinis yang berbeda pada kelompok dosis 4 dan satelit tidak menyebabkan kematian pada tikus.

Tabel I. Pengamatan gejala klinis tikus akibat pemberian sediaan

Kelompok perlakuan	Jumlah hewan yang mati	Gejala klinis yang timbul	
		H0	H7
Normal	0	Aktif, agresif, mata normal, bulu putih halus lebat	Aktif, agresif, mata normal, bulu putih halus lebat
Dosis 1	0	Aktif, agresif, mata normal, bulu putih halus lebat	Aktif, agresif, mata normal, bulu putih halus lebat
Dosis 2	0	Aktif, agresif, mata normal, bulu putih halus lebat	Aktif, agresif, mata normal, bulu putih halus lebat
Dosis 3	0	Aktif, agresif, mata normal, bulu putih halus lebat	Aktif, agresif, mata normal, bulu putih halus lebat
Dosis 4	0	Aktif, agresif, mata normal, bulu putih halus lebat	Pasif, mata normal, bulu kuning rontok
Satelit	0	Aktif, agresif, mata normal, bulu putih halus lebat	Pasif, mata normal, bulu kuning rontok

Berdasarkan pengamatan pada tikus di hari ke-0 dan ke-7 semua kelompok tidak mengalami kematian, bahkan pada dosis tertinggi yaitu 5625 mg/kgBB tikus masih dalam kondisi hidup. Hasil ini menunjukkan bahwa ekstrak etanol 70% temulawak mempunyai nilai LD₅₀ lebih besar dari 5625 mg/kgBB. Menurut Katrin

et al. (2011), bahwa LD₅₀ ekstrak etanol temulawak pada mencit dosisnya lebih besar dari 7500 mg/kgBB. Sedangkan menurut Nugroho (2015), ekstrak temulawak yang dikombinasikan dengan sambung nyawa dengan perbandingan 1:4 tidak memiliki potensi toksik hingga dosis 2000 mg/kg. Kombinasi temulawak dengan

beberapa tanaman obat lain menurut penelitian Winarno *et al.* (2015) mempunyai nilai LD₅₀ yang lebih dari 5000 mg/kgBB.

Pada pengamatan hari ke-7, terjadi penurunan keaktifan tikus dan bulu yang mengusam berwarna kekuningan disertai kerontokan pada beberapa bagian dari kelompok dosis 4 dan satelit. Warna kekuningan yang muncul disebabkan oleh faktor pemberian ekstrak temulawak yang berwarna kuning. Sesuai pendapat Kawiji *et al.* (2010) bahwa kurkumin merupakan zat pemberi warna kuning pada temulawak. Perubahan gejala klinis ini tidak menimbulkan kematian, sehingga dapat dikatakan bahwa temulawak dalam kategori tidak toksik.

Nilai hemoglobin yang terukur pada tikus jantan dan betina selama 28 hari pemberian ekstrak berada pada rentang 12,57–17,50 g/dL. Hasil tersebut masih berada dalam rentang normal menurut Hidayat *et al.* (2017). Semua tikus jantan mengalami peningkatan nilai hemoglobin dari H0 menuju H7 kecuali kelompok normal yang mengalami penurunan sebesar 0,92% (Tabel II). Nilai hemoglobin hari pengamatan ke-28 (H28) mengalami penurunan kecuali pada kelompok normal yang mengalami kenaikan sebesar 11,58%. Kelompok dosis 4 dan satelit tikus jantan pada H28 memiliki nilai hemoglobin yang lebih rendah daripada kelompok lain

($p < 0,05$). Nilai hemoglobin kelompok satelit tikus jantan pada hari pengamatan ke-42 (H42) yaitu 14,43 g/dL, mengalami peningkatan sebesar 14,80% dari H28.

Nilai hemoglobin tikus betina pada H7 mengalami penurunan, kecuali kelompok satelit mengalami kenaikan sebesar 6,45% (Tabel III). Nilai hemoglobin yang terukur pada tikus betina di H7 tidak berbeda nyata ($p > 0,05$). Hasil pengukuran nilai hemoglobin pada tikus betina di H28 mengalami penurunan kecuali pada kelompok dosis 4 yang mengalami kenaikan sebesar 1,74%. Nilai hemoglobin tikus betina kelompok dosis 1 dan 2 pada H28 berbeda nyata terhadap kelompok normal, dosis 3, dan 4 ($p < 0,05$). Nilai hemoglobin yang diperoleh antara tikus jantan dan betina pada H0, H7, dan H28 menunjukkan nilai yang hampir sama secara statistik ($p > 0,05$).

Nilai hemoglobin pada tikus jantan dan betina di H0, H7, dan H28 serta kelompok satelit tikus jantan di H42 masih berada dalam rentang normal menurut Hidayat *et al.* (2017). Hal ini menunjukkan bahwa tidak adanya efek toksik tertunda akibat pemberian ekstrak etanol 70% temulawak terhadap nilai hemoglobin. Peningkatan nilai hemoglobin yang terjadi pada tikus jantan sama sesuai dengan Ardiyanto *et al.* (2014) yaitu pemberian kombinasi temulawak, tapak liman, dan bayam merah mampu meningkatkan nilai

hemoglobin. Nilai hemoglobin yang melebihi nilai normal atau polisitemia dapat disebabkan oleh dehidrasi, gagal jantung, dan gaya hidup yang kurang sehat. Akibat yang ditimbulkan tidak berbahaya kecuali ada penyakit bawaan yang dapat mengakibatkan kematian (Sitasiwi & Isdadiyanto, 2017).

Perlakuan yang diberikan selama 28 pada penelitian ini memberikan efek terhadap nilai hemoglobin yang cenderung menurun khususnya pada tikus betina. Hal ini berkebalikan dengan hasil yang diperoleh oleh Listyawati (2006) yang menunjukkan peningkatan nilai hemoglobin setelah pemberian ekstrak etanol 95% temulawak. Nilai hemoglobin yang rendah merupakan salah satu indikator penyakit anemia. Hasil pemeriksaan hemoglobin, hematokrit, dan eritrosit saling berhubungan dan berbanding lurus jika terjadi perubahan (Wientarsih *et al.*, 2013).

Faktor yang mempengaruhi nilai hemoglobin menurut Arfah (2015) adalah karena adanya faktor internal dan eksternal bukan hanya karena factor perlakuan yang diberikan.

Menurut Sitasiwi & Isdadiyanto (2017), bahwa etanol sebagai pelarut dapat menghasilkan bahan aktif yang optimal. Kandungan kalium yang terekstrak dalam pelarut etanol 70% berperan dalam menjaga keseimbangan cairan dan elektrolit tubuh (Moerfiah *et al.*, 2019).

Flavonoid yang terkandung dalam temulawak dapat memberikan donasi atom hidrogen sehingga mengikat radikal bebas. Akibat radikal bebas ini akan terjadi hemolisis sel darah merah tapi dapat dicegah dengan keberadaan flavonoid. Senyawa lain yang terkandung dalam temulawak yaitu fenol. Menurut Muthmainnah *et al.* (2015), fenol dapat menangkal radikal bebas dan mencegah kerusakan sel.

Tabel II. Nilai hemoglobin tikus jantan

Kelompok perlakuan	Nilai hemoglobin pada hari pengamatan ke-(g/dL)		
	H0	H7	H28
Normal	15,17±2,60 ^a	15,03±1,50 ^a	16,77±2,78 ^c
Dosis 1	14,83±1,37 ^a	16,57±2,04 ^a	14,93±0,61 ^b
Dosis 2	16,80±1,54 ^a	17,50±2,20 ^a	14,53±0,32 ^b
Dosis 3	16,57±1,21 ^a	16,63±1,55 ^a	15,10±0,36 ^c
Dosis 4	14,53±0,90 ^a	16,03±2,39 ^a	13,57±0,29 ^a
Satelit	14,77±1,37 ^a	16,20±3,26 ^a	12,57±1,14 ^a

Keterangan : Nilai yang diikuti dengan huruf pada kolom yang sama menunjukkan hasil pengujian. ($\alpha=0,05$) ANOVA

Tabel III. Nilai hemoglobin tikus betina

Kelompok perlakuan	Nilai hemoglobin pada hari pengamatan ke-(g/dL)		
	H0	H7	H28
Normal	14,77±2,44 ^a	14,73±0,55 ^a	14,07±0,21 ^a
Dosis 1	16,17±1,27 ^a	15,87±0,91 ^a	15,00±0,87 ^b
Dosis 2	15,77±0,29 ^a	16,53±1,14 ^a	15,83±1,62 ^b
Dosis 3	16,53±0,67 ^a	15,33±0,81 ^a	12,83±0,23 ^a
Dosis 4	15,80±1,08 ^a	13,83±1,76 ^a	14,40±1,31 ^a
Satelit	15,50±1,84 ^a	16,50±2,21 ^a	13,20±1,61 ^a

Keterangan : Nilai yang diikuti dengan huruf pada kolom yang sama menunjukkan hasil pengujian. ($\alpha=0,05$) ANOVA

Nilai hematokrit yang terukur pada tikus jantan dan betina selama 28 hari pemberian ekstrak berada pada rentang 31,77% hingga 51,57%. Hasil tersebut masih berada dalam rentang normal menurut (Hidayat *et al.*, 2017). Hal ini menunjukkan bahwa tidak adanya efek toksik tertunda akibat pemberian ekstrak etanol 70% temulawak terhadap nilai hematokrit. Perhitungan nilai hematokrit pada hari H7 mengalami penurunan dibandingkan dengan H0 kecuali kelompok dosis 1, 4, dan satelit (Tabel IV). Peningkatan nilai hematokrit tertinggi dari H0 ke H7 tikus jantan terdapat pada kelompok satelit dari 43,03% menjadi 46,03%. Kecuali pada kelompok normal, terjadi penurunan nilai hematokrit tikus jantan pada H28. Kelompok satelit tikus jantan pada H28 memiliki nilai hematokrit paling rendah daripada kelompok lain ($p<0,05$). Nilai hematokrit kelompok satelit

tikus jantan mengalami peningkatan pada H42 dari 31,77% menjadi 42,15%.

Penurunan tertinggi terdapat pada kelompok dosis 3 dari 51,57% menjadi 42,59% (Tabel V). Nilai hematokrit pada tikus betina mengalami penurunan pada H28 kecuali kelompok dosis 1, 4, dan satelit. Kelompok dosis 3 pada tikus betina di H28 memiliki nilai hematokrit yang tidak sama secara nyata dengan kelompok lain ($p<0,05$). Nilai hematokrit antara tikus jantan dan betina pada H0, H7, dan H28 adalah sama ($p>0,05$).

Pengaruh dehidrasi, pendarahan atau edema akibat dari adanya pengeluaran cairan dari pembuluh darah akan berakibat meningkatnya hematokrit (Wientarsih *et al.*, 2013). Namun menurut Widyastuti (2013), darah yang encer akan berakibat nilai hematokrit yang rendah karena jumlah eritrosit rendah.

Menurut Zuhrawati *et al.* (2015), polisitemia akan mengakibatkan tingginya nilai hematokrit, sedangkan anemia akan mengakibatkan rendahnya hematokrit.

Nilai hematokrit dijadikan sebagai indikator agregat kesehatan (Milenkaya *et al.*, 2013).

Tabel IV. Nilai hematokrit tikus jantan

Kelompok perlakuan	Nilai hematokrit pada hari pengamatan ke-(%)		
	H0	H7	H28
Normal	44,89±6,31 ^a	43,27±2,70 ^a	48,72±4,45 ^c
Dosis 1	45,31±3,57 ^a	47,26±4,78 ^a	40,50±2,30 ^b
Dosis 2	48,83±3,13 ^a	48,55±7,47 ^a	38,57±2,66 ^b
Dosis 3	49,98±2,27 ^a	46,59±3,30 ^a	43,84±0,61 ^b
Dosis 4	43,19±3,55 ^a	43,89±5,98 ^a	40,45±2,15 ^b
Satelit	43,03±4,69 ^a	46,06±7,15 ^a	31,77±3,30 ^a

Keterangan : Nilai yang diikuti dengan huruf pada kolom yang sama menunjukkan hasil pengujian. ($\alpha=0,05$) ANOVA

Tabel V. Nilai hematokrit tikus betina

Kelompok perlakuan	Nilai hematokrit pada hari pengamatan ke-(%)		
	H0	H7	H28
Normal	45,73±6,96 ^a	46,41±2,29 ^a	41,83±1,87 ^a
Dosis 1	49,05±4,13 ^a	44,00±1,83 ^a	45,72±2,55 ^a
Dosis 2	49,84±2,69 ^a	48,62±4,08 ^a	44,90±3,39 ^a
Dosis 3	51,57±0,30 ^a	42,59±2,70 ^a	37,61±0,68 ^b
Dosis 4	44,26±3,82 ^a	40,03±8,00 ^a	42,48±3,24 ^a
Satelit	48,76±5,77 ^a	43,38±10,44 ^a	43,27±2,65 ^a

Keterangan : Nilai yang diikuti dengan huruf pada kolom yang sama menunjukkan hasil pengujian. $\alpha=0,05$) ANOVA

Jumlah leukosit yang terukur antara $5,01 \times 10^3/\mu\text{L}$ hingga $23,22 \times 10^3 \text{ sel}/\mu\text{L}$. Hasil tersebut masih berada dalam rentang normal menurut Fahrimal *et al.* (2014). Perhitungan jumlah leukosit tikus jantan

pada H7 mengalami penurunan dari H0 pada semua kelompok kecuali kelompok dosis 4 yang mengalami kenaikan sebesar 111,44% yaitu dari $9,70 \times 10^3 \text{ sel}/\mu\text{L}$ menjadi $20,51 \times 10^3 \text{ sel}/\mu\text{L}$ (Tabel VI).

Jumlah leukosit pada tikus jantan mengalami penurunan pada H28 dari H7 kecuali pada kelompok normal dan satelit mengalami kenaikan sebesar 7,72% dan 24,36% ($p>0,05$). Jumlah leukosit kelompok satelit mengalami penurunan sebesar 48,10% pada H42.

Perhitungan jumlah leukosit tikus betina pada H7 mengalami penurunan dari H0 pada semua kelompok terkecuali kelompok dosis 4 dan satelit mengalami kenaikan sebesar 64,87% dan 29,42% (Tabel VII). Jumlah leukosit kelompok dosis 1 dan 3 pada tikus betina di H7 berbeda nyata dengan kelompok lain ($p<0,05$). Jumlah leukosit pada tikus betina mengalami penurunan di H28 dari H7 terkecuali pada kelompok dosis 1 yang mengalami kenaikan sebesar 1,53%. Kelompok dosis 4 pada tikus betina

berbeda nyata dengan kelompok perlakuan lain ($p<0,05$). Jumlah leukosit antara tikus jantan dan betina pada H0, H7, dan H28 sama ($p>0,05$).

Jumlah leukosit pada tikus jantan dan betina di H0, H7, dan H28 serta kelompok satelit tikus jantan di H42 masih berada dalam rentang normal (Fahrimal *et al.*, 2014). Hal ini menunjukkan bahwa tidak adanya efek toksik tertunda akibat pemberian ekstrak etanol 70% temulawak terhadap jumlah leukosit. Jumlah leukosit pada tikus jantan dan betina di H7 dan H28 mengalami penurunan dari H0. Penurunan jumlah leukosit dapat disebabkan oleh beberapa faktor yaitu ada tidaknya infeksi. Penurunan jumlah leukosit menunjukkan bahwa tidak terjadi infeksi pada hewan coba.

Tabel VI. Jumlah leukosit tikus jantan

Kelompok perlakuan	Jumlah leukosit pada hari pengamatan ke-(sel/ μ L)		
	H0	H7	H28
Normal	$13,87 \times 10^3 \pm 3,26^a$	$9,85 \times 10^3 \pm 2,08^a$	$10,61 \times 10^3 \pm 4,26^a$
Dosis 1	$12,55 \times 10^3 \pm 6,03^a$	$10,65 \times 10^3 \pm 4,29^a$	$7,06 \times 10^3 \pm 2,39^a$
Dosis 2	$18,44 \times 10^3 \pm 6,27^a$	$13,85 \times 10^3 \pm 2,83^a$	$9,57 \times 10^3 \pm 6,20^a$
Dosis 3	$23,22 \times 10^3 \pm 6,55^a$	$15,29 \times 10^3 \pm 9,14^a$	$8,13 \times 10^3 \pm 1,96^a$
Dosis 4	$9,70 \times 10^3 \pm 2,72^a$	$20,51 \times 10^3 \pm 13,63^a$	$13,09 \times 10^3 \pm 4,99^a$
Satelit	$16,01 \times 10^3 \pm 2,69^a$	$13,34 \times 10^3 \pm 7,82^a$	$16,59 \times 10^3 \pm 7,83^a$

Keterangan : Nilai yang diikuti dengan huruf pada kolom yang sama menunjukkan hasil pengujian. ($\alpha=0,05$) ANOVA

Tabel VII. Jumlah leukosit tikus betina

Kelompok perlakuan	Jumlah leukosit pada hari pengamatan ke-(sel/ μ L)		
	H0	H7	H28
Normal	13,91 $\times 10^3 \pm 1,36^a$	13,91 $\times 10^3 \pm 5,78^b$	5,31 $\times 10^3 \pm 1,09^a$
Dosis 1	15,70 $\times 10^3 \pm 3,38^a$	8,47 $\times 10^3 \pm 4,70^a$	8,60 $\times 10^3 \pm 1,15^a$
Dosis 2	18,71 $\times 10^3 \pm 4,23^a$	12,55 $\times 10^3 \pm 0,98^b$	5,20 $\times 10^3 \pm 0,91^a$
Dosis 3	18,18 $\times 10^3 \pm 4,13^a$	7,79 $\times 10^3 \pm 1,62^a$	5,01 $\times 10^3 \pm 1,55^a$
Dosis 4	13,38 $\times 10^3 \pm 1,16^a$	22,06 $\times 10^3 \pm 8,12^b$	14,17 $\times 10^3 \pm 5,26^b$
Satelit	11,32 $\times 10^3 \pm 5,94^a$	14,65 $\times 10^3 \pm 4,86^b$	13,59 $\times 10^3 \pm 6,17^b$

Keterangan : Nilai yang diikuti dengan huruf pada kolom yang sama menunjukkan hasil pengujian. ($\alpha=0,05$) ANOVA

Leukosit diketahui meningkat tajam saat terjadinya infeksi (Toghyani *et al.*, 2010). Menurut Oliveira *et al.* (2017), adanya benda asing dalam tubuh akan direspon dengan meningkatkan jumlah leukosit sehingga tidak mengganggu fungsi tubuh. Penyakit leukemia merupakan penyakit akibat tingginya jumlah leukosit dalam tubuh dan dapat terjadi pada semua usia. Namun peningkatan tersebut belum mencapai nilai normalnya, oleh karena ada kemungkinan masih akan mengalami perbaikan setelah pemberian ekstrak temulawak.

IV. KESIMPULAN

Ekstrak etanol 70% temulawak mempunyai nilai LD₅₀ lebih besar dari 5.625 mg/kg BB. Pemberian ekstrak etanol 70% hingga dosis 5.625 mg/kg BB pada pengujian subkronis dapat memberikan efek penurunan terhadap nilai hemoglobin,

hematokrit, dan leukosit, dengan rerata nilainya masih dalam batas normal. Hasil pengukuran nilai hemoglobin, hematokrit, dan leukosit pada tikus selama pengujian subkronis menunjukkan nilai yang tidak ada perbedaan nyata antara tikus jantan dan betina.

KONFLIK KEPENTINGAN

Penulis menyatakan bahwa tidak ada konflik kepentingan dalam penulisan artikel ini.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Rektor IPB yang telah memfasilitasi pendanaan penelitian ini. Penulis juga mengucapkan terima kasih kepada Dekan FMIPA, IPB dan Ketua Departemen Biokimia, FMIPA, IPB yang telah memberikan izin untuk tim kami melakukan penelitian. Demikian juga

penulis mengucapkan terima kasih kepada mereka yang telah bekerja sama dalam mensukseskan penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Anggakusuma, Yanti, Lee, M., & Hwang, J. K. (2009). Estrogenic activity of xanthorrhizol isolated from *Curcuma xanthorrhiza* ROXB. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 32(11), 1892–1897.
<https://doi.org/10.1248/bpb.32.1892>
- Ardiyanto, D., Astana, P. R. W., & Triyono, A. (2014). Efek Formula Jamu Anti Anemia Terhadap Kadar Hemoglobin Pasien Anemia Di Rumah Riset Jamu “Hortus Medicus” Tawangmangu. *Jurnal Ilmu Farmasi Dan Farmasi Klinik*, 1–4.
<https://doi.org/10.31942/jiffk.v0i0.1192>
- Arfah, N. M. (2015). Pengaruh Pemberian Tepung Kunyit pada Ransum Terhadap Jumlah Eritrosit, Hemoglobin, Pcv, dan Leukosit Ayam Broiler. In *Pengaruh Penggunaan Pasta Labu Kuning (Cucurbita Moschata) Program Studi Kedokteran Hewan Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin Makassar: Vol. Fakultas Kedokteran*, Universitas Hasanuddin Makassar.
- BPOM. (2014). Persyaratan Mutu Obat Tradisional. *Badan Pengawas Obat Dan Makanan*, 1–25.
- Cheah, Y. H., Azimahtol, H. L. P., & Abdullah, N. R. (2006). Xanthorrhizol exhibits antiproliferative activity on MCF-7 breast cancer cells via apoptosis induction. *Anticancer Research*, 26(6 B), 4527–4534.
- Anggoro, D., R. S. Rezki, & Siswarni MZ. (2015). Ekstraksi Multi Tahap Kurkumin dari Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.) Menggunakan pelarut Etanol. *Jurnal Teknik Kimia USU*, 4(2), 39–45.
<https://doi.org/10.32734/jtk.v4i2.1469>
- Fahrimal, Y., Eliawardani, Rafina, A., Azhar, A., & Asmilia, dan N. (2014). Blood Profile of Rats (*Rattus norvegicus*) Infected with *Trypanosoma evansi* Treated with Willow Tree Bark Extract (*Salix tetrasperma* Roxb). *Perceptual and Motor Skills*, 8(2), 164–168.
<https://doi.org/10.2466/PMS.104.3.799-802>
- Farghadani, R., & Naidu, R. (2022). Curcumin as an Enhancer of Therapeutic Efficiency of Chemotherapy Drugs in Breast Cancer. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(4).
<https://doi.org/10.3390/ijms23042144>
- Farida, Y., Rahmat, D., & Widia Amanda, A. (2018). Uji Aktivitas Antiinflamasi Nanopartikel Ekstrak Etanol Rimpang Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.) dengan Metode Penghambatan Denaturasi Protein. *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia*, 16(2), 225–230.
- Hasan, A. E. Z., Mangunwidjaja, D., Sunarti, T. C., Suparno, O., & Setiyono, A. (2016). Antibreast cancer activity of nanopropolis Indonesia on induced mammary gland tumor by dmba in virgin sprague-dawley rats. *Biotropia*, 23(1), 35–41.
<https://doi.org/10.11598/btb.2016.23.1.473>
- Hidayat, M., Prahastuti, S. A. D., Dewi, E., Safitri, D., Farah, S., & Soemardji, A. A. (2017). Uji Toksisitas Subkronis Kombinasi Ekstrak Kedelai dan JatiBelanda terhadap Hematologi Tikus Wistar. *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia*. 15 (1); 114–119.
- Katrin, E., Winarno, H., & Susanto. (2011). The Acute Toxicity of Ethanol Extract from Irradiated Temulawak

- (Curcuma xanthorrhiza Roxb.) Which Have Anticancer Activity Ermin. *A Scientific Journal for The Applications of Isotopes and Radiation*, 7(1), 41.
- Kawiji, K., Atmaka, W., & Nugraha, A. A. (2010). Kajian Kadar Kurkuminoid, Total Fenol dan Aktivitas Antioksidan Oleoresin Temulawak. *Jurnal Teknologi Hasil Pertanian*, III(2), 102–110.
- Listyawati, S. (2006). Toxicity studies of the rhizome Curcuma xanthorrhiza Roxb. and Curcuma zedoaria Roscoe on hematological and male reproduction system of mice (Mus musculus L.). *Biofarmasi Journal of Natural Product Biochemistry*, 4(1), 10–13.
<https://doi.org/10.13057/biofar/f040103>
- Mansouri, K., Rasoulpoor, S., Daneshkhah, A., Abolfathi, S., Salari, N., Mohammadi, M., Rasoulpoor, S., & Shabani, S. (2020). Clinical effects of curcumin in enhancing cancer therapy: A systematic review. *BMC Cancer*, 20(1), 1–11.
<https://doi.org/10.1186/s12885-020-07256-8>
- Milenkaya, O., Weinstein, N., Legge, S., & Walters, J. R. (2013). Variation in body condition indices of crimson finches by sex, breeding stage, age, time of day, and year. *Conservation Physiology*, 1(1), 1–14.
<https://doi.org/10.1093/conphys/cot020>
- Moerfiah, Yulianita, & Setiawan, D. (2019). Efektivitas Stimulansia Kombinasi Sari Umbi Bit dan Buah Apel Terhadap Ketahanan Fisik dan Kadar Hb Tikus Putih Sprague Dawley. *Ekologia : Jurnal Ilmiah Ilmu Dasar dan Lingkungan Hidup*. 19 (21); 20-26.
- Muthmainnah, N., Trianto, H. F., Bangsawan, P. I., Belakang, L., & Hassk, A. (2015). Uji Toksisitas Akut Ekstrak Etanol 70 % Daun Karamunting (Rhodomyrtus tomentosa (Aiton) Hassk .) terhadap Gambaran Histopatologi Ginjal Tikus. 1(November), 277–292.
- Noomhorm, N., Chang, C. J., Wen, C. S., Wang, J. Y., Chen, J. L., Tseng, L. M., Chen, W. S., Chiu, J. H., & Shyr, Y. M. (2014). In vitro and in vivo effects of xanthorrhizol on human breast cancer MCF-7 cells treated with tamoxifen. *Journal of Pharmacological Sciences*, 125(4), 375–385.
<https://doi.org/10.1254/jphs.14024FP>
- Nugroho, F. A. (2015). Uji Toksisitas Akut Per Oral Kombinasi Ekstrak Temulawak (Curcuma xanthorrhiza Roxb.) Dan Sambung Nyawa (Gynura procumbens (Lour.) Merr) Pada Tikus Betina Galur Wistar Universitas Gadjah Mada, Universitas Gadjah Mada
- Ombredane, A. S., Silva, V. R. P., Andrade, L. R., Pinheiro, W. O., Simonelly, M., Oliveira, J. V., Pinheiro, A. C., Gonçalves, G. F., Felice, G. J., Garcia, M. P., Campos, P. M., Luz, G. V. S., & Joanitti, G. A. (2021). In Vivo Efficacy and Toxicity of Curcumin Nanoparticles in Breast Cancer Treatment: A Systematic Review. *Frontiers in Oncology*, <https://doi.org/10.3389/fonc.2021.612903>
- Oon, S. F., Nallappan, M., Tee, T. T., Shohaimi, S., Kassim, N. K., Sa'ariwijaya, M. S. F., & Cheah, Y. H. (2015). Xanthorrhizol: A review of its pharmacological activities and anticancer properties. *Cancer Cell International*, 15(1), 1–15.
<https://doi.org/10.1186/s12935-015-0255-4>
- Riki, R., Ambarsari, L., & Nurcholis, W. (2017). The Anti-Cancerpotential Of Temulawak Curcuminoids Extractsnanoparticles Against Cervical Cancer Line Cells. *Indonesia Natural Research*

- Pharmaceutical Journal*, 2(1), 1–10.
- Riki, Riki, Kurniatin, P. A., Ambarsari, L., Nurcholis, W., & Darusman, L. K. (2017). Characterization and Toxicity of Temulawak Curcuminoid Nanoparticles. *Current Biochemistry*, 3(1), 43–53. <https://doi.org/10.29244/cb.3.1.43-53>
- Rosidi, A., Khomsan, A., Setiawan, B., & Briawan, D. (2017). Potensi temulawak (c. *Potensi Temulawak*, 1995. <https://jurnal.unimus.ac.id/index.php/psn12012010/article/view/1219/1272>
- Sitasiwi, A. J., & Isdadiyanto, S. (2017). Kadar hemoglobin dan Jumlah Eritrosit mencit (*Mus musculus*) jantan setelah perlakuan dengan ekstrak etanol daun nimba (*Azadirachta indica*) the haemoglobin concentration and erythrocyte level. *Buletin Anatomi Dan Fisiologi*, 2(2), 161–167. <https://ejournal2.undip.ac.id/index.php/baf/article/view/1718>
- Sofia de Oliveira, And, E. E. R., & Huttenlocher, A. (2017). Neutrophil migration in infection and wound repair: going forward in reverse. *Nat Rev Immunol*, 16(6), 378–391. <https://doi.org/10.1038/nri.2016.49>. Neutrophil
- Song, X., Zhang, M., Dai, E., & Luo, Y. (2019). Molecular targets of curcumin in breast cancer (Review). *Molecular Medicine Reports*, 19(1), 23–29. <https://doi.org/10.3892/mmr.2018.9665>
- Toghyani, M., Tohidi, M., Gheisari, A. A., & Tabeidian, S. A. (2010). Performance, immunity, serum biochemical and hematological parameters in broiler chicks fed dietary thyme as alternative for an antibiotic growth promoter. *African Journal of Biotechnology*, 9(40), 6819–6825. <https://doi.org/10.5897/AJB09.1998>
- Wang, Y., Yu, J., Cui, R., Lin, J., & Ding, X. (2016). Curcumin in Treating Breast Cancer: A Review. *Journal of Laboratory Automation*, 21(6), 723–731. <https://doi.org/10.1177/2211068216655524>
- Widyastuti, D. A. (2013). *Profil Darah Tikus Putih Wistar pada Kondisi Subkronis Pemberian Natrium Nitrit*. 31(2), 201–215.
- Wientarsih, I., Derthi Widhyari, S., & Aryanti, T. (2013). the Combination of Curcumin With Zinc in Feed As Alternatif Therapy Collibacillosis in Broiler). *Jurnal Veteriner*, 14(3), 327–334. <https://jurnalpertanianumpar.com/index.php/jgt/article/download/27/106>
- Winarno, M. W., Widowati, L., & Sundari, D. (2015). Studi Keamanan Ramuan Jamu untuk Hiperurisemia dan Hipertensi. *Buletin Penelitian Kesehatan*, 43(3). <https://doi.org/10.22435/bpk.v43i3.4341.137-146>
- Zuhrawati, Z., Asmilia, N., Rizky, A., Zuraidawati, Z., Nazaruddin, N., Adam, M., & Muttaqien, M. (2015). The Effect of Chayote (*Sechium edule*) Leaves Infusion on Haemoglobin and Hematocrit Level of Anemic White Rat (*Rattus norvegicus*). *Jurnal Medika Veterinaria*, 9(2). <https://doi.org/10.21157/j.med.vet.v9i2.3945>