

Pengaruh Iradiasi Gamma Pada Toksisitas Akut Oral Ekstrak Etanol Jahe Merah (*Zingiber officinale*)

Effect of Gamma Irradiation on Acute Oral Toxicity of Ethanollic Extract of Red Ginger (*Zingiber officinale*)

Ermin Katrin, Winarti Andayani, Susanto dan Hendig Winarno

Pusat Aplikasi Isotop dan Radiasi, BATAN
Jl. Lebak Bulus Raya No. 49, Jakarta Selatan 12440
Email : ermin@batan.go.id

Diterima 6-1-2014; Diterima dengan revisi 16-1-2014; Disetujui 12-5-2014

ABSTRAK

Pengaruh Iradiasi Gamma Pada Toksisitas Akut Oral Ekstrak Etanol Jahe Merah (*Zingiber officinale*). Jahe merah banyak digunakan dalam pengobatan tradisional untuk mengobati berbagai jenis penyakit. Evaluasi sifat toksik jahe merah sangat penting untuk mengetahui dampak negatif (yang membahayakan) terhadap kesehatan pasien. Oleh karena itu, sebelum dikonsumsi oleh manusia, perlu dilakukan penelitian toksisitas akut oral jahe merah pada mencit. Rimpang tipis jahe merah dalam kemasan plastik poli etilen diiradiasi dengan sinar gamma pada dosis 10 kGy dengan laju dosis 10 kGy/jam. Ekstrak etanol dari jahe merah yang tidak diiradiasi maupun yang diiradiasi lalu diuji toksisitas akut oral menggunakan metode OECD *Guideline test*. Hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa sepanjang 14 hari perlakuan terdapat perubahan pola perilaku, gejala klinis dan berat badan mencit kontrol dan perlakuan kelompok. Pemeriksaan histopatologi sampai dosis kurang dari 1250 mg/kg berat badan (bb) menunjukkan normal dan tidak ada efek samping yang signifikan diamati pada ginjal, jantung, hati, paru-paru dan limpa. Kerusakan vena central dan berkurangnya jumlah sel hepatosit pada mencit jantan terjadi pada kelompok dosis uji ≥ 2000 mg/kg bb, sedangkan pada mencit betina terjadi pada kelompok uji dosis ≥ 1250 mg/kg bb. Berdasarkan histologi ginjal mencit jantan dan betina pada dosis ≥ 1250 mg/kg bb terjadi kerusakan pada kapsul bowman, glomerulus, pembuluh proksimal dan pembuluh distal. LD₅₀ ekstrak etanol jahe merah yang tidak diiradiasi adalah 1887 mg/kg bb dan yang diiradiasi 10 kGy adalah 2639 mg/kg bb mencit dan dapat dikategorikan toksik sedang. Pemberian oral ekstrak etanol jahe merah dosis 1250 mg/kg bb pada mencit menunjukkan efek pada organ mencit. Dari hasil yang diperoleh dapat disimpulkan bahwa pemberian oral ekstrak etanol jahe merah yang tidak diradiasi (0 kGy) maupun yang diiradiasi 10 kGy dapat dinyatakan aman pada pemberian dosis kurang dari 1250 mg/kg bb.

Kata kunci: iradiasi gamma, toksisitas akut oral, jahe merah (*Zingiber officinale*)

ABSTRACT

Effect of Gamma Irradiation on Acute Oral Toxicity of Ethanollic Extract of Red Ginger (*Zingiber officinale*). Red ginger is widely used in traditional medicine to treat various types of diseases. Evaluation of the toxic properties of red ginger is very important to know the negative harmful impact to human health. Therefore, before it is consumed by humans, it is needed to conduct acute oral toxicity of red ginger extract in mice. Thin rhizome of red ginger in poly ethylene plastic packaging was irradiated by gamma rays at a dose of 10 kGy with a dose rate of 10 kGy/h. The ethanol extract of unirradiated as well as irradiated red ginger was then tested for the acute oral toxicity using OECD *Guideline test* method. The results showed that throughout the 14 days of treatment there was a change in behavior pattern, clinical symptoms and body weight of control mice and treatment groups. Histopathological examination of kidneys, heart, liver, lungs and spleen of the dose less than 1250 mg/kg body weight showed normal condition and no significant side effects observation. While central venous damage and a reduced number of hepatocyte cells in male mice

occurred in the test dose higher than 2000 mg/kg body weight, whereas in female mice it occurred in the test group dose higher than 1250 mg/kg bw. Based on renal histology of male and female mice at doses higher than 1250 mg/kg body weight, there were damage to Bowman's capsule, glomerulus, proximal vessel and distal vessels. LD50 of unirradiated and irradiated with 10 kGy of ethanol extract of red ginger were 1887 mg/kg body weight and 2639 mg/kg body weight, respectively, and it can be categorized as moderately toxic. Oral administration of ethanol extract of red ginger with dose of 1250 mg/kg body weight gave an effect in mice organs. From these results it can be concluded that oral administration of both unirradiated and irradiated with a dose 10 kGy of ethanol extract consider safe at a dose less than 1250 mg/kg body weight.

Keywords : gamma irradiation, acute oral toxicity, red ginger, *Zingiber officinale*

PENDAHULUAN

Pada pengobatan tradisional di Indonesia, jahe dipakai untuk mengobati sesesma, batuk, diare dan penyakit radang sendi tulang seperti arthritis. Rimpang jahe mengandung minyak atsiri yang terdiri dari senyawa-senyawa seskuiterpen, zingiberen, zingeron, oleoresin, kamfena, limonen, borneol, sineol, sitral, zingiberol, felandren [1]. Di samping itu terdapat juga pati, damar, asam-asam organik seperti asam malat dan asam oksalat, vitamin A, B, dan C, serta senyawa-senyawa flavonoid dan polifenol. Oleoresin jahe banyak mengandung komponen pembentuk rasa pedas yang tidak menguap yaitu gingerol, selain itu terdapat zingiberen, shogaol, minyak atsiri dan resin [1]. Komponen utama minyak atsiri jahe yang menyebabkan aroma harum adalah zingiberen dan zingiberol. Jahe mempunyai sifat antioksidan kuat, ini disebabkan oleh komponen bioaktif seperti 6-paradol, shogaol, zingeron dan gingerol [1]. Pemberi rasa pedas dalam jahe yang utama adalah minyak atsiri. Kandungan minyak atsiri jahe merah berkisar antara 1-4 %, jahe merah dari Kuba mengandung kurkumen 22,1%, zingiberen 11,7%, [beta]-bisabolen 11,2% dan cadina-1,4-dien 12,5% [2]. Jahe bermanfaat untuk melancarkan sirkulasi darah, meningkatkan sistem kekebalan tubuh [3], menghangatkan tubuh, antiradang [4], antioksidan [5] dan antimikroba [6,7].

Simplisia rimpang jahe merah walaupun telah dikeringkan (kadar air \leq

10%), dikemas rapat masih dapat mengandung mikroba cukup tinggi menurut hasil penelitian di beberapa kota di Oman rimpang jahe yang diambil dari supermarket, oleh karena itu tidak dapat disimpan lebih dari 3 bulan [8]. Rimpang jahe tersebut diperoleh dari 5 perusahaan komersial terkenal yang berbeda dan didapatkan 12 jenis cendawan, yaitu *Alternaria alternata* (96,7%), diikuti oleh *Penicillium spp* (46,8%), dan *A. nidulans* (40%). Hasil penelitian PRATIWI [10] menunjukkan bahwa bahan jamu telah terkontaminasi melebihi ambang batas konsumsi, yaitu $< 10^6$ CFU (*Colony Forming Unit*) per ml untuk bakteri dan $< 10^4$ CFU/ml untuk kapang/khamir [9]. Salah satu upaya memperpanjang masa simpan simplisia jahe merah dilakukan dengan teknik radiopasteurisasi menggunakan sinar gamma. Iradiasi gamma efektif menurunkan jumlah mikroorganisme yang terdapat pada suatu simplisia sehingga dapat memperpanjang masa simpan simplisia [10]. Dalam *Codex Alimentarius Commission* disebutkan bahwa dosis radiasi gamma sampai 10 kGy merupakan dosis yang aman [11]. Pada penelitian ini simplisia jahe merah diiradiasi pada dosis 10 kGy kemudian diekstraksi dengan etanol dan diuji toksisitas akutnya menggunakan hewan uji mencit putih.

Toksisitas akut adalah toksisitas yang terjadi dalam waktu singkat setelah pemberian sediaan uji dosis tunggal [12]. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui keamanan ekstrak etanol jahe merah yang

telah diradiasi 10 kGy melalui uji toksisitas akut secara oral pada hewan uji mencit putih galur *Swiss-Webster*. Pengamatan yang dilakukan adalah efek farmakologik, perubahan bobot badan dan indeks profil indeks organ dalam. Selain itu dilakukan penentuan Dosis Letal 50 (DL_{50}) sediaan uji yaitu tanda statistik pada pemberian suatu bahan sebagai dosis tunggal yang dapat menyebabkan kematian 50% hewan uji. Suatu sediaan atau zat dikatakan toksik apabila menyebabkan kematian pada dosis 5000 mg/kg bb [12]. Oleh karena itu pada uji toksisitas akut, digunakan sampel dengan 5 tingkat dosis sebagai berikut 0 (kontrol); 5; 50; 300; 1250 dan 2000 mg/kg bb.

Pengujian ini bertujuan untuk mengetahui keamanan jahe merah baik yang tidak dan yang diiradiasi 10 kGy, melalui uji toksisitas akut secara oral menggunakan hewan uji mencit galur *Swiss-Webster*.

BAHAN DAN METODE

Bahan dan peralatan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah jahe merah (*Zingiber officinale*) diperoleh dari kebun petani di Semarang dan telah dideterminasi di Herbarium Bogoriense, Bogor. Natrium-CMC, air suling, air minum matang, pakan mencit. Hewan uji adalah mencit galur *Swiss Webster* jantan dan betina, usia 2 bulan yang diperoleh dari Bagian Perhewan Pusat Ilmu Hayati ITB.

Peralatan yang digunakan iradiator karet alam dengan sumber radiasi gamma ^{60}Co , penguap putar vakum (Buchi), desikator hampa, timbangan analitik, timbangan mencit, alat uji aktivitas motorik mencit, alat bedah mencit, kamera digital, mortar, stamper, gelas ukur, gelas piala, sonde oral mencit, dan alat-alat gelas.

Iradiasi bahan uji

Jahe merah dipotong-potong tipis, dikeringkan pada suhu ruang 30°C dan disimpan dalam wadah plastik yang tertutup rapat. Jahe merah kering (kadar air 8 %)

dibungkus dalam 2 kantong plastik polietilen, masing-masing seberat 1 kg, satu bungkus sebagai kontrol (tidak diiradiasi) dan bungkus yang lain diiradiasi gamma dengan dosis 10 kGy pada laju dosis 10 kGy/jam.

Pembuatan ekstrak etanol jahe merah

Jahe merah kering yang tidak diiradiasi dan yang diiradiasi 10 kGy, masing-masing dimaserasi dalam etanol. Setiap hari filtrat diambil, pelarut diuapkan untuk memperoleh ekstrak yang kental kemudian ditimbang.

Uji toksisitas akut ekstrak etanol

Uji toksisitas akut ekstrak etanol jahe merah dilakukan berdasarkan OECD *guideline test* [11]. Sediaan uji adalah ekstrak etanol jahe merah yang disuspensikan dalam CMCNa 0,5% dan dibuat serangkaian dosis uji (5; 50; 300; 1250; 2000 dan 5000 mg/kg bb), sedangkan kelompok mencit kontrol tidak diberi bahan uji, hanya diberi larutan CMCNa 0,5%. Sebagai hewan coba digunakan mencit putih jantan dan betina galur *swiss webster*, usia 2 bulan, berat badan antara 20 - 35 g. Hewan coba dikelompokkan ke dalam 5 kelompok. Setiap kelompok terdiri dari 5 ekor jantan dan 5 ekor betina. Parameter pengujian yaitu bobot badan ditimbang selama 14 hari, adanya kematian hewan uji, indeks organ, dan farmakologi [11,12].

Pengamatan dan analisis data

Setelah pemberian sampel uji, pengamatan gejala fisik hewan uji selama 2 menit pada tiap jam selama 4 jam. Pengamatan dilanjutkan selama 14 hari sejak sediaan uji diberikan terhadap gejala fisik dan jumlah hewan uji yang mati. Selain itu dilakukan juga pengamatan efek terhadap sistem saraf 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. Perbedaan bobot badan dan kematian mencit dipantau terus setiap hari

sampai 14 hari setelah pemberian sediaan uji. Pada hari ke 14, semua mencit dikorbankan kemudian organ mencit ditimbang dan dihitung indeks organ terhadap bobot badan mencit. Untuk mencit jantan organ-organ yang diambil adalah hati, limpa, paru-paru, ginjal, jantung, vesikal seminalis dan testis sedangkan pada mencit betina organ yang diambil adalah hati, limpa, paru-paru, ginjal, jantung, ovarium dan uterus. Selain itu pengamatan yang dilakukan adalah profil perbedaan bobot badan mencit.

Analisis statistik berat badan dan organ

Kebermaknaan data yang diperoleh diolah secara statistik menggunakan uji-t (*Student t-test*) untuk 2 (dua) sampel bebas (*independent*) dengan asumsi varians sama, yaitu antara tiap kelompok uji dibandingkan dengan kelompok kontrol, uji anova dan *multicomparison LSD* [13]. Pada hari ke 14, semua mencit dikorbankan, kemudian organ-dalam mencit ditimbang dan dihitung indeksnya terhadap bobot badan mencit.

Analisis histopatologi dari hati, ginjal dan limpa

Semua organ vital seperti hati, ginjal dan limpa diambil dari masing-masing individu, difiksasi dalam 10% buffer formalin, diproses dan ditanam dalam lilin parafin. Bagian parafin (5 μ m) dipotong diletakkan pada kaca *slide* dan diwarnai dengan hematoksilin dan eosin. *Slide* diperiksa di bawah mikroskop dan struktur jaringan difoto untuk studi lebih lanjut [14].

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil ekstraksi

Maserasi dengan etanol dari 1 kg jahe merah yang tidak diiradiasi (0 kGy) menghasilkan ekstrak jahe merah seberat 64 g, sedangkan dari 1 kg jahe merah yang diiradiasi dosis 10 kGy diperoleh ekstrak seberat 62,5 g. Setelah sampel diiradiasi terjadi penurunan jumlah ekstrak yang diperoleh, hal ini terjadi diduga disebabkan

adanya perubahan sifat fisik dan kimia pada komponen-komponen dalam jahe merah. Kemungkinan lain juga dapat disebabkan kadar komponen-komponen dalam rimpang jahe merah yang diiradiasi memang lebih rendah dari rimpang jahe merah kontrol, sehingga bagian yang dapat terkestrak ke dalam pelarut etanol hanya 62,5 g.

Aktivitas farmakologik

a. Sampel yang tidak diiradiasi (0 kGy)

Aktivitas farmakologik mencit jantan dan betina yang diberi ekstrak etanol jahe merah yang tidak diiradiasi menunjukkan bahwa pada kelompok kontrol (mencit yang tidak diberi bahan uji) dan kelompok uji terjadi perbedaan aktivitas motorik, fenomena *Straub*, *ptosis*, *gelantung*, *reestablishment*, jalan melingkar, respon fleksi dan *haffner grooming*, defekasi, urinasi, denyut jantung, pernafasan, sikap tubuh dan kematian. Setelah 30 menit pemberian dosis tunggal sediaan cair yang mengandung sampel yang tidak diiradiasi, pada kelompok uji dosis 300, 1250 dan 2000 mg/kg bb mencit jantan dan betina mengalami penurunan aktivitas motorik jika dibandingkan dengan kelompok kontrol.

Kematian mencit jantan terjadi langsung sebelum pengamatan 30 menit, dimana pada kelompok hewan uji yang diberi sampel uji dengan dosis 1250 mg/kg bb terjadi kematian hewan uji sebesar 33,3%, pada dosis 2000 mg/kg bb terjadi kematian hewan uji sebesar 72% dan pada dosis 5000 mg/kg bb terjadi kematian pada seluruh hewan uji (100%). Pemberian ekstrak jahe merah secara oral pada dosis tertinggi 5000 mg/kg mengakibatkan kematian seluruh hewan uji, menyiratkan bahwa jahe merah bersifat toksik. Sama seperti pada kelompok mencit jantan, kematian pada kelompok mencit betina juga terjadi langsung sebelum pengamatan 30 menit, dimana pada dosis 2000 mg/kg bb terjadi kematian hewan uji sebesar 43% dan pada dosis 5000 mg/kg bb terjadi kematian pada seluruh hewan uji (100%). Kemampuan refleksi korneal dan pineal juga menurun pada kelompok uji dosis 2000 mg/kg bb jika

dibandingkan kelompok kontrol. Pada dosis 2000 mg/kg bb juga terjadi penurunan kemampuan gelantung dan *reestablishment*, respon fleksi dan *haffne* dan ketidaknormalan pada denyut jantung, pernafasan dan sikap tubuh jika dibandingkan dengan kelompok kontrol.

b. Sampel yang diiradiasi 10 kGy

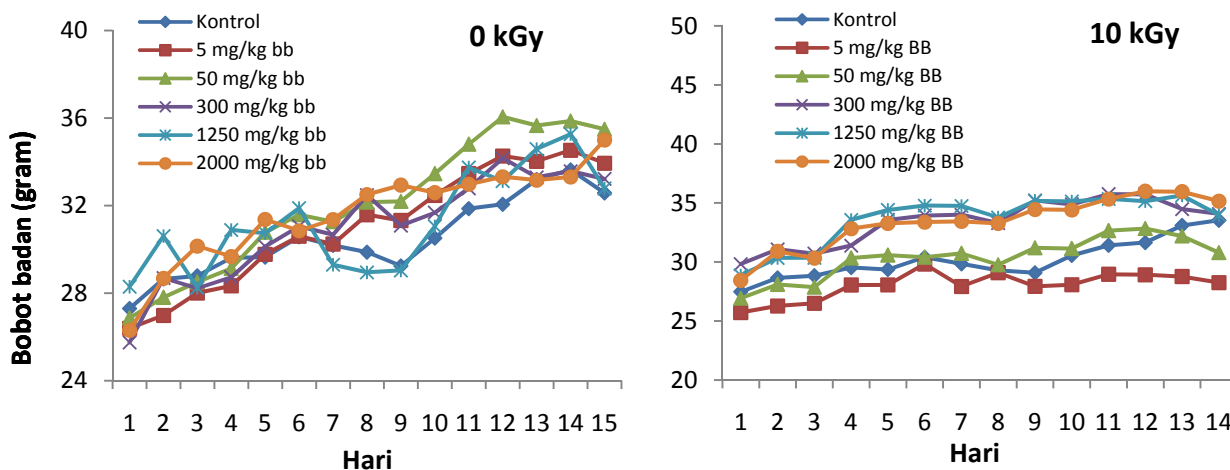
Aktivitas farmakologik mencit jantan dan betina yang diberi ekstrak etanol jahe merah yang diiradiasi 10 kGy menunjukkan bahwa pada kelompok kontrol dan kelompok uji dosis 1250, 2000 dan 5000 mg/kg bb terjadi perbedaan aktivitas motorik, fenomena *straub*, *ptosis*, gelantung, *reestablishment*, jalan melingkar, *grooming*, defekasi, urinasi, sikap tubuh dan kematian. Setelah 30 menit pemberian dosis tunggal sediaan cair yang mengandung bahan uji tersebut kepada mencit jantan, pada kelompok uji dosis 300, 1250 dan 2000 mg/kg bb mengalami penurunan aktivitas motorik jika dibandingkan dengan kelompok kontrol. Kematian juga terjadi langsung sebelum pengamatan 30 menit, dimana pada dosis 1250 mg/kg bb terjadi kematian hewan uji sebesar 29%, pada dosis 2000 mg/kg bb terjadi kematian hewan uji sebesar 22% dan pada dosis 5000 mg/kg bb terjadi kematian pada seluruh hewan uji. Kemampuan refleks korneal dan pineal juga menurun pada kelompok uji dosis 1250, 2000 dan 5000 mg/kg bb jika dibandingkan kelompok kontrol. Hal yang sama juga dapat diamati pada kemampuan gelantung dan *reestablishment*. Penurunan juga terjadi pada respon fleksi dan *haffner*. Ketidaknormalan juga teramati pada denyut jantung, pernafasan dan sikap tubuh pada kelompok uji dosis 1250, 2000 dan 5000 mg/kg bb jika dibandingkan dengan kelompok kontrol.

Aktivitas farmakologik mencit betina menunjukkan bahwa pada kelompok kontrol dan kelompok uji terjadi perbedaan aktivitas motorik, fenomena *Straub*, refleks korneal, refleks pineal, gelantung, *reestablishment*, jalan melingkar, respon fleksi dan *haffner* *grooming*, defekasi, urinasi, denyut jantung, pernafasan, sikap tubuh dan kematian. Sama seperti pada kelompok

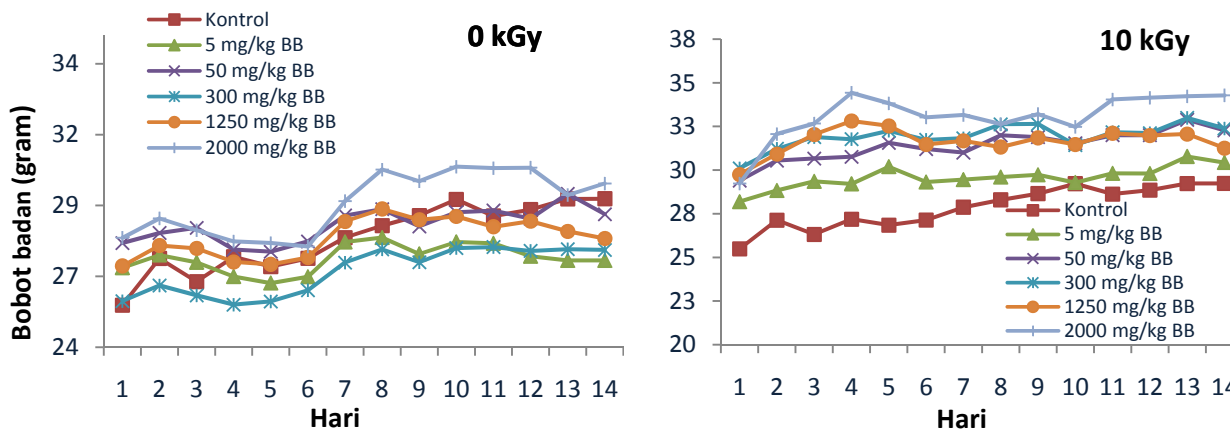
mencit jantan, pada kelompok mencit betina, setelah 30 menit pemberian dosis tunggal sediaan cair yang mengandung ekstrak etanol jahe merah yang diiradiasi 10 kGy, pada kelompok uji dosis 300, 1250 dan 2000 mg/kg bb mengalami penurunan aktivitas motorik jika dibandingkan dengan kelompok kontrol. Kematian juga terjadi langsung sebelum pengamatan 30 menit, dimana pada dosis 2000 mg/kg bb terjadi kematian hewan uji sebesar 43% dan pada dosis 5000 mg/kg bb terjadi kematian pada seluruh hewan uji (100%). Pada dosis 1250 dan 2000 mg/kg bb, sejak menit ke-30 juga terjadi penurunan kemampuan gelantung dan *reestablishment*. Kemampuan refleks korneal dan pineal pada kelompok uji dosis 2000 mg/kg bb sejak menit ke-30 juga mengalami penurunan, begitu juga dengan respon fleksi dan *haffner* dan ketidaknormalan pada denyut jantung, pernafasan dan sikap tubuh jika dibandingkan dengan kelompok kontrol.

Statistik bobot badan

Bobot badan mencit jantan yang diberi ekstrak etanol jahe merah yang tidak diiradiasi (0 kGy) dan yang diiradiasi 10 kGy dapat dilihat pada Gambar 1, sedangkan bobot badan mencit betina dapat dilihat pada Gambar 2. Pada perhitungan menggunakan statistik, jumlah data yang digunakan sesuai dengan jumlah hewan yang hidup pada akhir percobaan. Hasil uji ANOVA terhadap persen perubahan bobot badan mencit jantan antar kelompok menunjukkan bahwa pada hari ke-4, hari ke-7, hari ke-12 dan hari ke-14 ada perbedaan bermakna ($P < 0,05$). Sedangkan uji ANOVA terhadap persen perubahan bobot badan tiap hari kelompok mencit betina antara tiap kelompok uji dan kelompok kontrol menunjukkan bahwa hanya pada hari ke-1 perbedaan yang bermakna ($P < 0,05$). Hasil uji-t terhadap persen perubahan bobot badan tiap hari kelompok mencit jantan antara tiap kelompok uji dan kelompok kontrol menunjukkan bahwa varians kelompok uji dosis 2000 mg/kg bb identik dengan



Gambar 1. Bobot badan mencit jantan pasca pemberian akut-oral dosis tunggal ekstrak etanol jahe merah yang tidak diirradiasi (0 kGy) dan yang diirradiasi 10 kGy



Gambar 2. Bobot badan mencit betina pasca pemberian akut-oral dosis tunggal ekstrak etanol jahe merah yang tidak diirradiasi (0 kGy) dan yang diirradiasi 10 kGy

kelompok kontrol ($P > 0,05$). Pada kelompok uji dosis 5 mg/kg bb hanya pada hari ke- 4 dan ke-7 yang berbeda dengan kelompok kontrol ($P < 0,05$), sedangkan pada kelompok uji dosis 50 dan 300 mg/kg bb pada hari ke-4, ke-7 dan ke-12 yang berbeda dengan kelompok kontrol ($P < 0,05$). Pada kelompok uji dosis 1250 mg/kg bb, varians yang berbeda dengan kelompok kontrol terjadi pada hari ke-2 dan hari ke-14 ($P < 0,05$). Hasil uji-t terhadap persen perubahan bobot badan tiap hari kelompok mencit betina antara tiap kelompok uji dan kelompok kontrol menunjukkan bahwa semua dosis tidak berbeda dengan kelompok kontrol ($P > 0,05$).

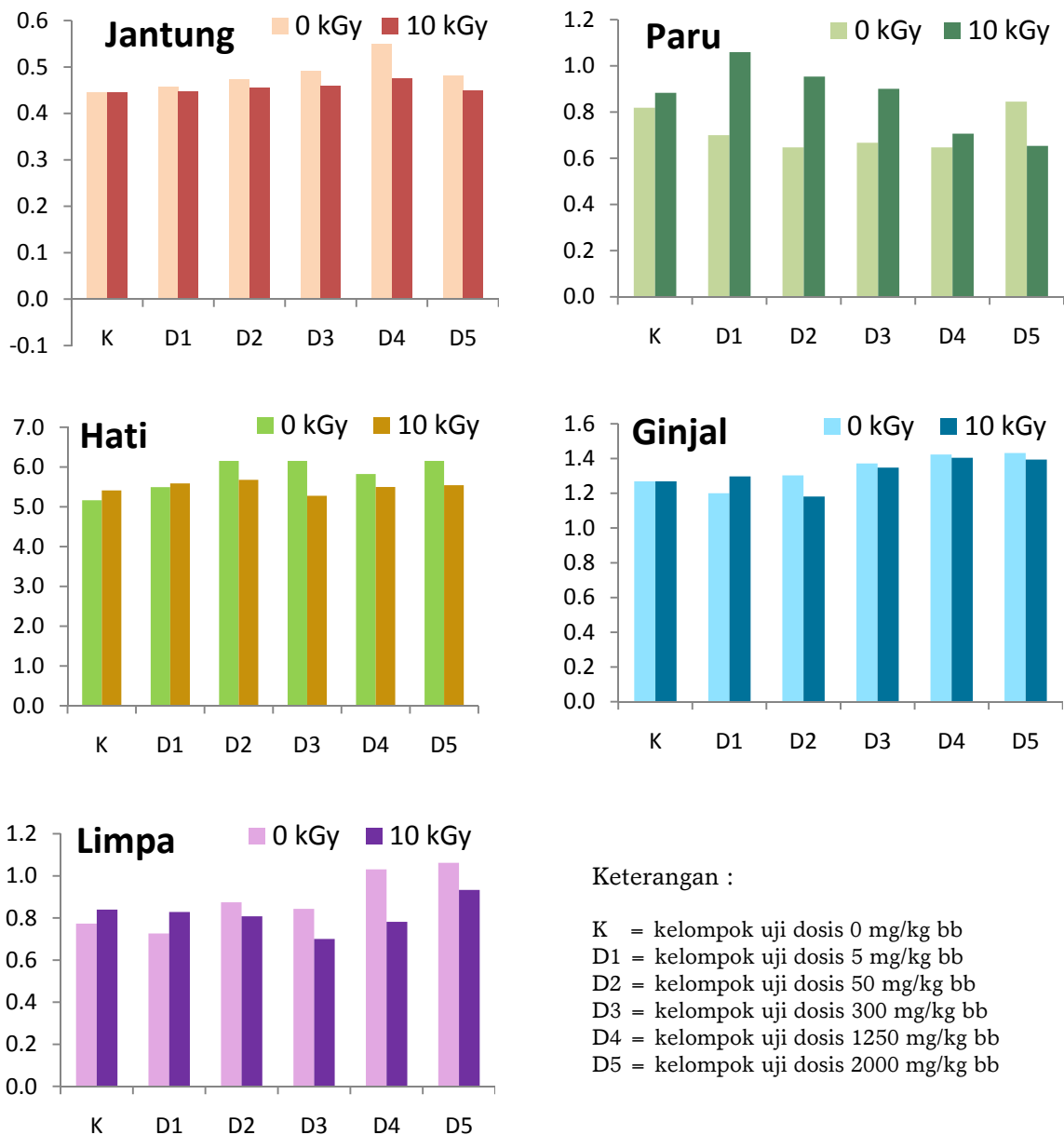
Hasil uji-terhadap persen perubahan bobot badan tiap hari kelompok mencit jantan antara tiap kelompok uji dan kelompok kontrol menunjukkan bahwa varians kelompok uji dosis 5000 mg/kg bb identik dengan kelompok kontrol ($P > 0,05$). Pada kelompok uji dosis 625 mg/kg bb hanya pada hari ke-12 yang berbeda dengan kelompok kontrol ($P < 0,05$), sedangkan pada kelompok uji dosis 2500 mg/kg bb hanya pada hari ke-2 yang berbeda dengan kelompok kontrol ($P < 0,05$). Pada kelompok uji dosis 1250 mg/kg bb, varians yang berbeda dengan kelompok kontrol terjadi pada hari ke-2, ke-7 dan ke-13 ($P < 0,05$). Hasil uji-t terhadap persen

perubahan bobot badan tiap hari kelompok mencit betina antara tiap kelompok uji dan kelompok kontrol menunjukkan bahwa varians kelompok uji dosis 2500 mg/kg bb identik dengan kelompok kontrol ($P > 0,05$). Pada hari ke-5, perbedaan varians terjadi antara kelompok kontrol dengan masing-masing kelompok uji dosis 625 mg/kg bb, 1250 mg/kg bb dan 5000 mg/kg bb ($P < 0,05$).

Sedangkan pada hari ke-6 dan ke-8, hanya varians kelompok uji dosis 5000 mg/kg bb yang berbeda dengan kelompok kontrol ($P < 0,05$).

Efek pada organ-dalam

Pada mencit jantan yang diberi ekstrak etanol jahe merah yang tidak diiradiasi (Gambar 3) terlihat bahwa pada kelompok



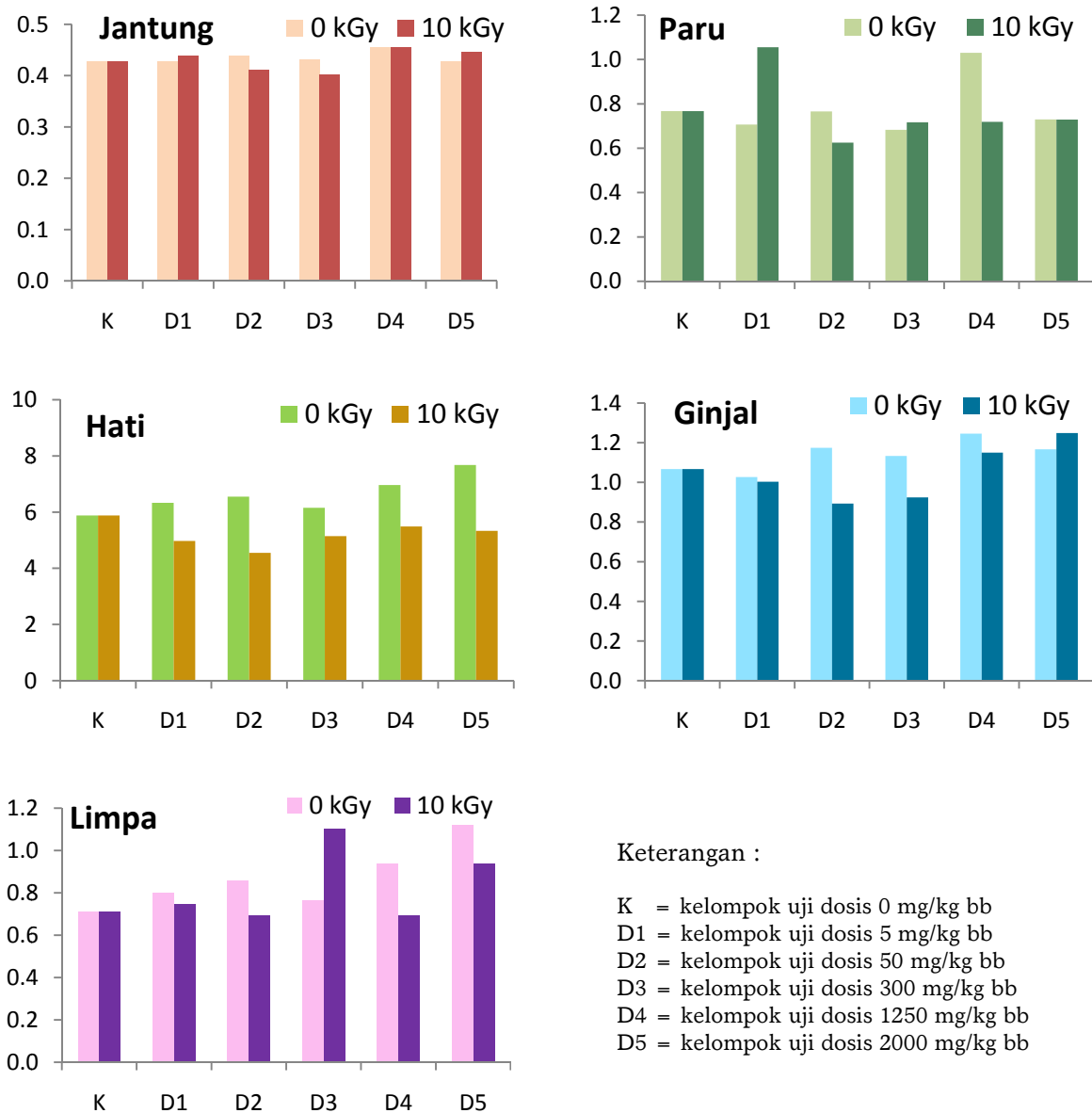
Gambar 3. Diagram batang indeks organ-dalam mencit jantan setelah pemberian akut-oral dosis tunggal ekstrak etanol jahe merah yang tidak diiradiasi (0 kGy) dan yang diiradiasi 10 kGy

uji dosis 5 mg/kg bb mempunyai indeks organ jantung dan hati lebih besar dibandingkan dengan kelompok kontrol dan mempunyai indeks organ paru, ginjal, dan limpa lebih kecil dari kelompok kontrol. Indeks organ jantung, hati, ginjal, dan limpa pada kelompok uji dosis 50 mg/kg bb lebih besar dibandingkan dengan kelompok control (mencit yang tidak diberi bahan uji), sedangkan indeks organ paru lebih kecil dari kelompok kontrol (K). Indeks organ jantung, hati, ginjal, hati, dan limpa pada kelompok uji dosis 300 dan 1250 mg/kg bb lebih besar dibandingkan dengan kelompok control, sedangkan indeks organ paru lebih kecil dari kelompok kontrol. Semua indeks organ pada kelompok uji dosis 2000 mg/kg bb lebih besar jika dibandingkan kelompok kontrol. Hasil uji-t menunjukkan bahwa varians semua indeks organ pada kelompok uji identik dengan kelompok kontrol ($P > 0,05$).

Pada mencit jantan yang diberi ekstrak etanol jahe merah yang diiradiasi 10 kGy kelompok uji dosis 5 mg/kg bb pada indeks organ paru, hati, dan ginjal lebih besar dibandingkan dengan kelompok kontrol dan pada indeks organ jantung dan limpa lebih kecil dari kelompok kontrol. Pada kelompok uji dosis 50 dan 300 mg/kg bb pada indeks organ jantung, paru, dan hati lebih besar dibandingkan dengan kelompok kontrol dan pada indeks organ ginjal dan limpa lebih kecil dari kelompok kontrol. Pada kelompok uji dosis 300 dan 1250 mg/kg bb pada indeks organ jantung, hati, dan ginjal lebih besar dibandingkan dengan kelompok kontrol dan pada indeks organ paru dan limpa lebih kecil dari kelompok kontrol. Pada kelompok uji dosis 2000 mg/kg bb pada organ jantung, hati, ginjal, dan limpa lebih besar dibandingkan dengan kelompok kontrol dan pada indeks organ paru lebih kecil dari kelompok kontrol. Hasil uji-t pada indeks organ dalam mencit jantan menunjukkan jantung, paru, dan hati lebih besar dibandingkan dengan kelompok kontrol dan pada indeks bahwa pada semua kelompok dosis uji tidak ada perbedaan bermakna jika dibandingkan kelompok kontrol ($P > 0,05$).

Pada mencit betina yang diberi ekstrak etanol jahe merah yang tidak diiradiasi (Gambar 4) terlihat bahwa pada kelompok uji dosis 5 mg/kg bb pada indeks organ jantung, limpa lebih besar dari kelompok kontrol. Pada kelompok uji dosis 1250 mg/kg bb pada hati dan limpa lebih besar dibandingkan dengan kelompok kontrol dan pada indeks organ paru dan ginjal lebih kecil dari kelompok kontrol. Pada kelompok uji dosis 50 dan 300 mg/kg bb pada indeks organ jantung, hati, ginjal dan limpa lebih besar dibandingkan dengan kelompok kontrol dan pada indeks organ paru uterus lebih kecil dari kelompok kontrol. Pada kelompok uji dosis 1250 mg/kg bb pada indeks organ jantung, paru, hati, ginjal dan limpa lebih besar dibandingkan dengan kelompok kontrol. Pada kelompok uji dosis 2000 mg/kg bb pada indeks organ hati, ginjal dan limpa lebih besar dibandingkan dengan kelompok kontrol dan pada indeks organ jantung dan paru lebih kecil dari kelompok kontrol. Hasil uji-t menunjukkan bahwa hampir semua indeks organ pada kelompok uji tidak berbeda dengan kelompok kontrol ($P > 0,05$), kecuali pada kelompok uji dosis 2000 mg/kg bb pada indeks organ hati berbeda bermakna dibanding kontrol ($P < 0,05$).

Pada mencit betina yang diberi ekstrak etanol jahe merah yang diiradiasi 10 kGy kelompok uji dosis 5 mg/kg bb menunjukkan indeks organ jantung, paru dan limpa lebih besar dibandingkan dengan kelompok kontrol dan pada indeks organ hati dan ginjal lebih kecil dari kelompok kontrol. Pada kelompok uji dosis 50 mg/kg bb indeks organ jantung, paru, hati, dan ginjal lebih kecil dibandingkan kelompok kontrol, sedangkan organ limpa lebih besar dari kelompok kontrol. Pada kelompok uji dosis 300 mg/kg bb pada indeks organ jantung, paru, hati, dan ginjal lebih kecil dibandingkan kelompok kontrol, sedangkan organ limpa lebih besar dari kelompok kontrol. Pada kelompok uji dosis 1250 mg/kg bb pada indeks organ jantung dan ginjal lebih besar dibandingkan dengan kelompok kontrol, pada indeks organ paru, hati, dan



Gambar 4. Diagram batang indeks organ-dalam mencit betina setelah pemberian akut-oral dosis tunggal ekstrak etanol jahe merah yang tidak diiradiasi (0 kGy) dan yang diiradiasi 10 kGy

limpa lebih kecil dari kelompok kontrol. Pada kelompok uji dosis 200 mg/kg bb pada indeks organ jantung, ginjal, dan limpa lebih besar dibandingkan dengan kelompok kontrol, selanjutnya pada indeks organ paru dan hati lebih kecil dari kelompok kontrol. Sedangkan hasil uji-t pada indeks organ dalam mencit betina menunjukkan bahwa pada kelompok uji dosis 5, 1250 dan 2000 mg/kg bb tidak ada perbedaan bermakna

jika dibandingkan kelompok kontrol ($P > 0,05$). Hasil uji-t pada kelompok uji dosis 50 mg/kg bb menunjukkan bahwa pada indeks organ dalam hati dan ginjal ada perbedaan bermakna jika dibandingkan kontrol ($P < 0,05$).

Pada Gambar 4 terlihat bahwa pada kelompok uji dosis 5 mg/kg bb pada indeks organ jantung, hati dan limpa lebih besar dibandingkan dengan kelompok kontrol dan

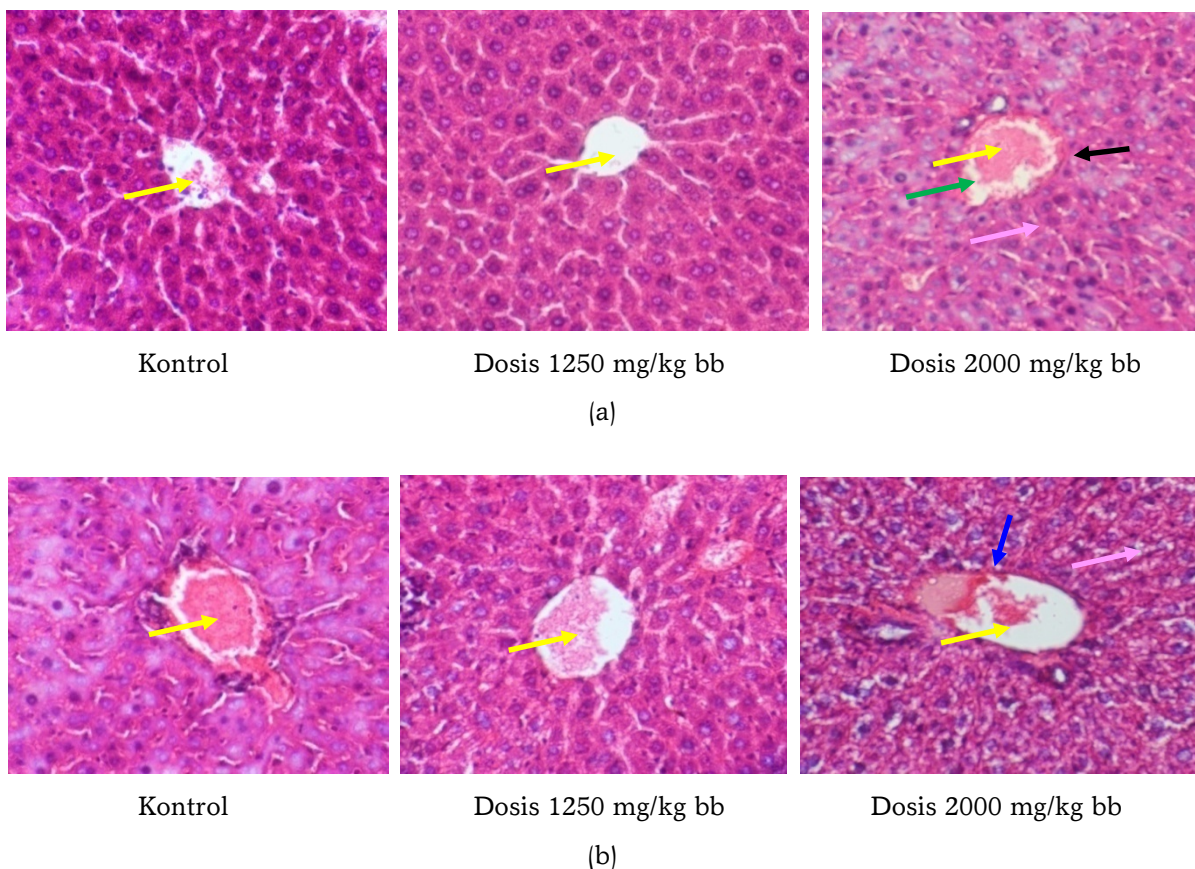
pada indeks organ paru, ginjal, uterus dan ovarium lebih kecil dari kelompok kontrol. Pada kelompok uji dosis 50 dan 300 mg/kg bb pada indeks organ jantung, hati, ginjal dan limpa lebih besar dibandingkan dengan kelompok kontrol dan pada indeks organ paru, uterus dan ovarium lebih kecil dari kelompok kontrol. Pada kelompok uji dosis 1250 mg/kg bb pada indeks organ jantung, paru, hati, ginjal dan limpa lebih besar dibandingkan dengan kelompok kontrol dan pada indeks organ uterus dan ovarium lebih kecil dari kelompok kontrol. Pada kelompok uji dosis 2000 mg/kg bb pada indeks organ hati, ginjal dan limpa lebih besar dibandingkan dengan kelompok kontrol dan pada indeks organ jantung, paru uterus dan ovarium lebih kecil dari kelompok kontrol.

Hasil uji-t menunjukkan bahwa hampir semua indeks organ pada kelompok

uji identik dengan kelompok kontrol ($P > 0,05$), kecuali pada indeks organ ovarium dan uterus pada kelompok uji dosis 5 mg/kg bb terjadi perbedaan bermakna jika dibandingkan kontrol ($P < 0,05$) dan pada kelompok uji dosis 2000 mg/kg bb pada indeks organ hati dan ovarium berbeda bermakna dibanding kontrol ($P < 0,05$).

Histologi organ-dalam

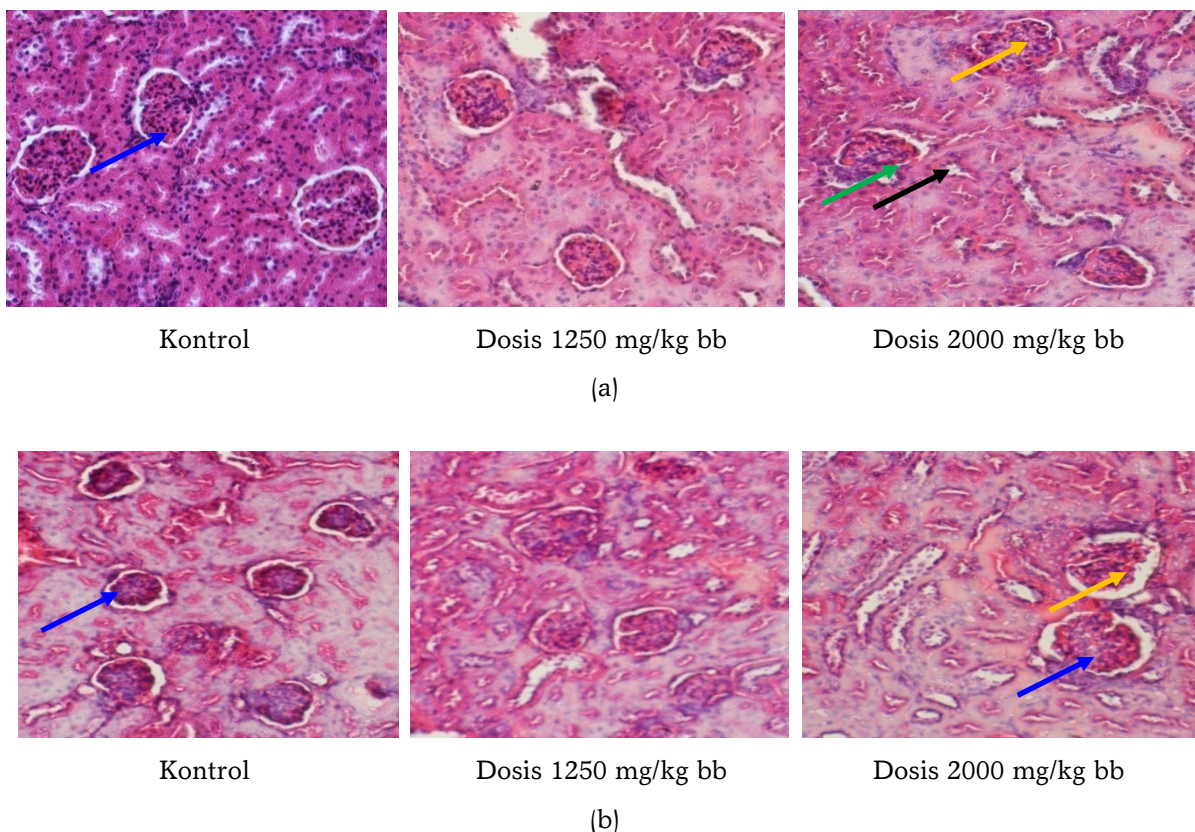
Histologi organ hati, ginjal dan limpa mencit yang diberi ekstrak etanol rimpang jahe yang diiradiasi 10 kGy dapat dilihat pada Gambar 5, 6, dan 7. Gambaran histologi pada organ hati, ginjal dan limpa hewan uji (jantan dan betina) yang telah diberi ekstrak etanol rimpang jahe merah yang tidak diiradiasi (0 kGy) pada dosis 0 (kontrol), 1250 maupun 2000 mg/kg sama seperti pada hewan uji yang diberi ekstrak



Gambar 5. Histologi organ hati mencit jantan (a) dan betina (b) setelah pemberian akut-oral dosis tunggal ekstrak etanol dari jahe merah yang diiradiasi (10 kGy). Kontrol adalah mencit yang tidak diberi bahan uji.

etanol jahe merah yang diiradiasi 10 kGy, gambar tidak ditampilkan. Berdasarkan histologi hati mencit jantan pada Gambar 5 terlihat bahwa terjadi kerusakan hati yang ditandai dengan berkurangnya jumlah sel hepatosit (panah merah muda) dan kerusakan pada vena sentral (panah kuning).

[17]. Zat-zat tersebut dapat menyebabkan kerusakan hepar dan bersifat toksik [18]. Zat toksik dapat menyebabkan terganggunya permeabilitas selaput, homeostatis osmosa, keutuhan enzim dan kofaktor yang selanjutnya akan membebani sel tersebut dan menyebabkan kerusakan dan disfungsi



Gambar 6. Histologi organ ginjal mencit jantan (a) dan betina (b) setelah pemberian akut-oral dosis tunggal ekstrak etanol dari jahe merah yang diiradiasi (10 kGy). Kontrol adalah mencit yang tidak diberi bahan uji.

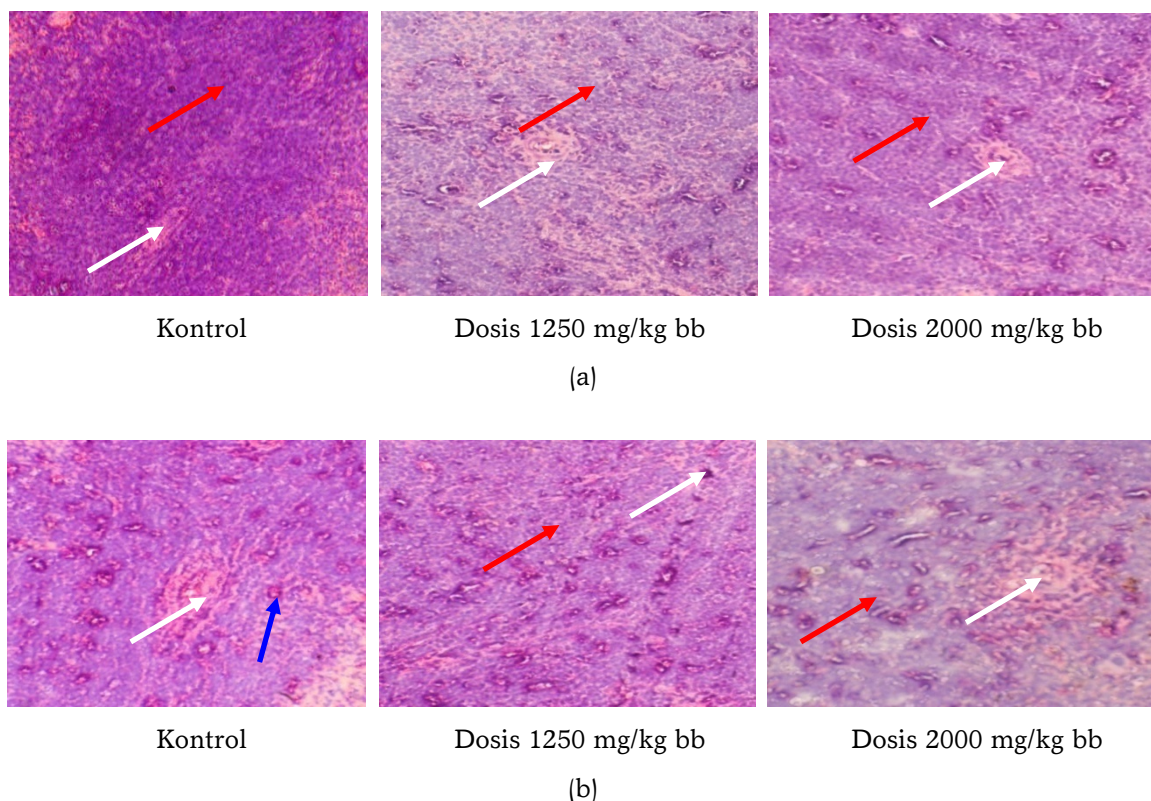
Kerusakan vena sentral dan berkurangnya jumlah sel hepatosit pada mencit jantan terjadi pada kelompok dosis uji 2000 mg/kg bb, sedangkan pada mencit betina terjadi pada kelompok uji dosis 1250 mg/kg bb, 2000 mg/kg bb dan 5000 mg/kg bb. Gambaran organ ini diduga telah terjadi perubahan histopatologi sel hepar karena ekstrak jahe merah yang masuk ke dalam tubuh mengandung zat-zat dan senyawa-senyawa kimia yang merupakan zat asing

sel [19]. Ekstrak jahe merah sebagai bahan uji ini mengandung senyawa reaktif yang dalam keadaan normal segera diubah menjadi metabolit yang lebih stabil. Namun, bila kadarnya tinggi sekali, maka metabolit antara yang terbentuk juga banyak sekali. Karena inaktivasinya tidak cukup cepat, senyawa tersebut sempat bereaksi dengan komponen sel dan menyebabkan kerusakan jaringan [20]. Metabolit yang dikandung dalam rimpang jahe merah misalnya

gingerol yang sangat pedas rasanya yang diduga bersifat toksik pada jumlah yang banyak. Secara patologi organ, pemberian ekstrak etanol jahe merah memiliki risiko toksik terhadap hepar yaitu perubahan struktur histopatologi sel hepar berupa degenerasi parenkimatosa (panah hijau), degenerasi hidropik (panah biru), dan nekrosis (panah hitam). Hal ini tidak sesuai dengan opini masyarakat selama ini yang beranggapan obat tradisional praktis aman dan tidak memberikan efek samping. Menurut Ressang [21] nekrosis pada hati bisa juga disebabkan oleh pengaruh langsung agen yang bersifat toksik atau karena kekurangan faktor-faktor yang sangat diperlukan sel seperti oksigen dan zat-zat makanan (nekrosis trofoatik). Oleh karena itu, masyarakat perlu bersikap hati-hati dalam mengkonsumsi ekstrak jahe merah dan memperhatikan dosis yang dikonsumsi. Berdasarkan hasil pengamatan histopatologi

jaringan hati, maka ekstrak etanol dari jahe merah yang tidak maupun yang diiradiasi 10 kGy sampai dosis 300 mg/kg bb aman dikonsumsi.

Ginjal terdiri dari korteks dan medula. Pada daerah korteks terdapat glomerulus, tubulus kontortus proksimal dan distal. Daerah medula penuh dengan percabangan pembuluh darah arteri dan vena renalis, ansa Henle dan duktus koligens. Satuan kerja terkecil dari ginjal disebut nefron. Tiap ginjal mempunyai kira-kira 1 juta nefron. Nefron terdiri atas glomerulus, kapsul Bowman, pembuluh proksimal, ansa Henle dan pembuluh distal [14]. Hasil histologi ginjal mencit baik jantan maupun betina, pada dosis 1250 mg/kg bb dan 2000 mg/kg bb terjadi kerusakan pada kapsul bowman (panah biru), glomerulus (panah oranye), pembuluh proksimal (panah hitam) dan pembuluh distal (panah hijau) (Gambar 6). Kapsul bowman adalah tempat proses



Gambar 7. Histologi organ limpa mencit jantan (a) dan betina (b) setelah pemberian akut-oral dosis tunggal ekstrak etanol dari jahe merah yang diiradiasi (10 kGy). Kontrol adalah mencit yang tidak diberi bahan uji.

penyaringan darah sampai dihasilkan urin. Dosis ekstrak jahe merah ≥ 1250 mg/kg bb sudah menunjukkan adanya efek toksik pada ginjal.

Berdasarkan histologi limfa mencit baik jantan maupun betina pada Gambar 7, terlihat bahwa pada kelompok kontrol masih dapat dibedakan antara *white pulp*, *red pulp* dan *central arteriol* (panah biru), sedangkan pada kelompok uji terjadi kerusakan pada *white pulp* (panah putih), *red pulp* (panah merah) dan tidak terlihat adanya *central arteriol*. Hasil indeks organ kelompok uji dosis 2000 mg/kg bb pada organ ginjal, lebih besar dibandingkan dengan kelompok kontrol dan pada indeks organ paru lebih kecil dari kelompok kontrol. Hasil uji-t pada indeks organ dalam mencit jantan menunjukkan bahwa pada semua kelompok dosis uji tidak ada perbedaan bermakna jika dibandingkan kelompok kontrol ($P \leq 0,05$).

Organ yang berperan dalam sistem imun salah satunya adalah limpa. Limpa bersama jaringan limfonodi berperan dalam memproduksi antibodi (limfosit) yang berperan dalam sistem imunitas. Pulpa putih merupakan tempat terbesar yang

memproduksi antibodi, peningkatan sistem imun akan memberikan efek protektif tubuh terhadap agen asing (antigen) yang dapat merusak sel [21]. Berdasarkan hasil pengamatan mikroskopik limpa tikus yang mendapatkan ekstrak jahe merah < 2000 mg/kg bb menunjukkan limpa yang normal. Hal ini berarti bahwa pemberian ekstrak etanol jahe merah < 2000 mg/kg bb tidak mempengaruhi perubahan sel-sel limpa.

LD₅₀

Pada kelompok uji dosis 5, 50 dan 300 mg/kg bb terlihat tidak ada mencit yang mati selama periode pengamatan (14 hari) setelah pemberian dosis tunggal ekstrak etanol jahe merah yang tidak diiradiasi. Pada kelompok uji dosis 1250 mg/kg terjadi kematian sebesar 10%, sedangkan pada dosis 2000 mg/kg bb terjadi kematian sebesar 57% dan pada dosis 5000 mg/kg bb terjadi kematian pada seluruh hewan uji (Tabel 1). Perhitungan LD₅₀ menggunakan analisis probit menunjukkan bahwa LD₅₀ ekstrak etanol jahe merah yang tidak diiradiasi adalah 1887 mg/kg bb, termasuk toksisitas sedang.

Tabel 1. Analisis probit pada bahan uji ekstrak etanol dari jahe merah yang tidak diiradiasi

Dosis pemberian	Log Dosis	Total Hewan	Kematian	Kematian (%)	Probit
5	0,69897	14	0	0	-
50	1,69897	14	0	0	-
300	2,47710	14	0	0	-
1250	3,09610	10	1	10	3,72
2000	3,30103	14	8	57	5,18
5000	3,69897	6	6	100	-

Tabel 2. Analisis Probit pada bahan uji ekstrak etanol dari jahe merah yang diiradiasi 10 kGy

Dosis pemberian	Log Dosis	Total Hewan	Kematian	Kematian (%)	Probit
5	0,69897	13	0	0	-
50	1,69897	13	0	0	-
300	2,47710	13	0	0	-
1250	3,09610	14	3	21	4,19
2000	3,30103	16	6	38	4,70
5000	3,69897	9	9	100	-

Pada kelompok uji dosis 5, 50 dan 300 mg/kg bb tidak ada mencit yang mati selama periode pengamatan (14 hari) setelah pemberian dosis tunggal ekstrak etanol jahe merah iradiasi dosis 10 kGy. Pada kelompok uji dosis 1250 mg/kg bb terjadi kematian sebesar 21%, sedangkan pada dosis 2000 mg/kg bb terjadi kematian sebesar 38% dan pada dosis 5000 mg/kg bb terjadi kematian pada seluruh hewan uji (Tabel 2). Perhitungan LD₅₀ menggunakan analisis probit [10] menunjukkan bahwa LD₅₀ ekstrak etanol jahe merah iradiasi dosis 10 kGy adalah 2639 mg/kg bb, termasuk toksisitas sedang. LD₅₀ ekstrak jahe merah yang diiradiasi lebih tinggi dari kontrol, hal ini diduga adanya degradasi akibat iradiasi gamma pada komponen-komponen kimia jahe merah. Jumlah komponen yang menyebabkan rasa pedas diduga mengalami penurunan akibat iradiasi gamma, sehingga jumlah hewan uji yang mati pada kelompok dosis 2000 mg/kg bb ekstrak jahe yang diiradiasi (38% yang mati) lebih rendah dari kontrol (57% yang mati).

KESIMPULAN

LD₅₀ ekstrak etanol jahe merah yang tidak diiradiasi dan yang diiradiasi 10 kGy adalah 1887 dan 2639 mg/kg bb, dapat dikelompokkan mempunyai toksisitas sedang. Ekstrak etanol jahe merah yang tidak diiradiasi (0 kGy) maupun yang diiradiasi 10 kGy dapat dinyatakan aman pada pemberian dosis kurang dari 1250 mg/kg bb.

UCAPAN TERIMA KASIH

Para penulis mengucapkan terima kasih atas dukungan penelitian *blockgrant* Program Insentif Riset Terapan, bantuan Sdr. Tjahyono, S.P. dan para staf Balai Iradiator, Elektromekanika dan Instrumen - PAIR BATAN yang telah melakukan iradiasi sampel, PT. Sido Muncul yang telah memberikan rimpang jahe merah sebagai

bahan penelitian, demikian juga kepada Dr. Afifah B. Sutjiatmo M.S., Suci Nar Vikasari M.Med.Sci., dan Ita Nur Anisa yang telah membantu dan menyediakan fasilitas uji toksisitas akut di Laboratorium Farmakologi Pusat Ilmu Hayati ITB sehingga penelitian ini dapat terlaksana dengan baik.

DAFTAR PUSTAKA

1. MASUDA, T., JITOE, A. and MABRY, T.J., Isolation and structure determination of cassumunarins A, B, C : new anti-inflammatory antioxidants from a tropical ginger *Zingiber cassumunar*, *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **72**, 1053-1057 (1995).
2. AHMAD, A.S., Jahe (*Zingiber officinale*), <http://www.bebibook.tripod.com/jahe.htm>, Departemen Budidaya Pertanian, Fakultas Pertanian Institut Pertanian Bogor, (2006). Diakses 2 Desember 2010.
3. NORDIN, N. I., Immunomodulatory Effects of *Zingiber officinale* Roscoe var. *rubrum* (Halia Bara) on Inflammatory Responses Relevant to Psoriasis, Doctor thesis of Philosophy in the Faculty of Medicine, University of London, 30 (2012).
4. ASTUTI, A.D.W., Efektivitas pemberian ekstrak jahe merah (*Zingiber officinale* roscoe var. Rubrum) dalam mengurangi nyeri otot pada atlet sepak takraw, Fakultas Kedokteran, Universitas Diponegoro, Semarang, 5 (2011).
5. OBOH, G, AKINYEMI, A.J., ADEMILUYI, A.O., Antioxidant and inhibitory effect of red ginger (*Zingiber officinale* var. Rubra) and white ginger (*Zingiber officinale* Roscoe) on Fe(2+) induced lipid peroxidation in rat brain in vitro,

- Exp Toxicol Pathol.*, **64** (1-2), 31-36 (2012).
6. RAJASTHAN, J., *Zingiber Officinale* : Chemical and phytochemical screening and evaluation of its antimicrobial activities, *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*, **4** (1), 360-364 (2012).
7. SIVASOTHY, Y., CHONG, W.K., HAMID, A., ELDEEN, I.M., SULAIMAN, S.F., AWANG, K., Essential oils of *Zingiber officinale* var. *rubrum* Theilade and their antibacterial activities, *Food Chemistry*, **124**, 514-517 (2011).
8. IRAWATI, Z. Implementasi iradiasi pangan: keamanan, mutu, daya simpan dan regulasi. Prosiding Simposium dan Pameran Teknologi Aplikasi Isotop dan Radiasi, Pusat Aplikasi Isotop dan Radiasi BATAN, Jakarta, 101-8 (2008).
9. ELSHAFIE, A.E., AL-RASHDI, T. A., AL-BAHRY, S.N. and BAKHEIT, C.S., Fungi and aflatoxins associated with spices in the Sultanate of Oman. *Mycopathologia*, **155**, 155-160 (2002).
10. PRATIWI, S.T., Pengujian cemaran bakteri dan cemaran kapang/khamir pada produk jamu gendong di daerah Makassar, Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Pertanian Jurusan Teknologi Pertanian Universitas Hasanuddin, (2010).
11. Codex Alimentarius General Standard for Irradiated Foods Codex Stan 106 1983. Codex Alimentarius Commission. Rev1-2003, 1-2.
12. NIELSON, E., OSTERGAARD, G., LARSEN, J.C., "Toxicological Risk Assessment of Chemicals: A Practical Guide", Informa Healthcare, New York, 107 - 111 (2008).
13. ANONIM, OECD - Guideline for testing of chemicals, Test No. 423 : Acute Oral Toxicity - Acute Toxic Class Method, adopted : 17th December 2001, 1-14 (2001). (Cited at April 6, 2011 : http://www.oecd-ilibrary.org/environment/oecd-guidelines-for-the-testing-of-chemicals-section-4-health-effects_20745788).
14. ARNOLD, D.L., HAROLD, C.G. and KREWSKI, D.R., "Handbook of In Vivo Toxicity Testing", Academic Press, Inc., Toronto, (1990).
15. STEEL, R.D.D. and TORRIE, J. H., "Principles and Procedures of Statistics A Biometrical Approach", 2 nd ed., McGraw-Hill Internasional Book Co., Tokyo, (1980).
16. MCMANUS, J.G.A., MOWRY, R.W. "Staining Methods: Histological and Histochemical", Harper and Row, New York, (1984).
17. CRAWFORD, J.M., Liver and biliary tract. In: Kumar V, Abbas AK, Fausto N. Robbins and Cotran, Pathologic Basis Of Disease. 7thed. Philadelphia: Elsevier Saunders; 2005. 880-1,903.
18. ARCE, S., CERUTTI, S., OLSINA, R., GOMEZ, M.R., MARTINEZ, L.D. Determination of metal content in valerian root phytopharmaceutical derivatives by atomic spectrometry. *Journal of AOAC Internasional* [online] 2005 Jan 1 [cited on 2009 Aug 7]. Available from: URL: <http://www.articlearchives.com/environment-natural-resources/toxic-hazardous/10283941.html>.

-
19. SHERLOCK, S., Penyakit hati dan sistem saluran empedu. Jakarta: Widya Medika; 1990. 384-7.
20. SETIAWATI, A., SUYATNA, F.D., dan GAN, S., Pengantar farmakologi. In: Gunawan SG, Setiabudy R, Nafrialdi, Elysabeth. Farmakologi dan terapi. 5thed. Jakarta: Departemen Farmakologi dan Terapeutik Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia; 2007. 1-11.
21. RESSANG, A.A., Buku Pelajaran Patologis Khusus Veteriner, Edisi II, Bali Cattle Disease Investigation Unit, Denpasar, 1984, 53, 54 240, 246.