

UJI TOKSISITAS AKUT (LD₅₀) DAN ANTIPIRETIK INFUS RIMPANG *ZINGIBER purpureum* ROXB (BENGLE) PADA HEWAN PERCOBAAN

Pudjiastuti*; Sa'roni*; Budi Nuratmi*

Abstrak

Bengle (*Zingiber purpureum* ROXB) termasuk famili Zingiberaceae. Ini merupakan tanaman yang banyak dikenal oleh masyarakat dan biasa digunakan untuk menanggulangi penyakit, salah satu diantaranya adalah sebagai penurun panas. Untuk mengetahui keamanan khasiat penggunaannya, perlu didukung data ilmiah maka dilakukan uji toksisitas akut (LD₅₀) dan antipiretik rimpang bengle pada hewan coba.

Uji toksisitas akut menggunakan cara Weil C.S. dengan mencit sebagai hewan percobaannya. Dan, uji antipiretik menggunakan cara B.Wahjoedi yang dimodifikasi dengan tikus sebagai hewan percobaan.

Hasil percobaan LD₅₀ infus rimpang bengle adalah 31,56 (24,96 – 39,87)mg/10g bb, menurut penggolongan Gleason termasuk dalam bahan *Practically Non Toxic*. Hasil uji antipiretik infus rimpang bengle dosis 220mg/100 g bb tidak berbeda dengan asetosal dosis 0,52mg/100g bb.

Pendahuluan

Antipiretik, yaitu obat/zat yang digunakan sebagai penurun demam, obat antipiretik dari golongan salisilat dapat meredakan demam dengan menurunkan suhu demam tubuh tanpa mempengaruhi suhu normal. Obat golongan ini umumnya disebut sebagai obat *analgesik antipiretik* karena umumnya, selain mempunyai efek analgesik juga mempunyai efek antipiretik disamping antiinflamasi. Obat antipiretik lainnya seperti aminopirin, antipirin dan kina, disamping menurunkan suhu demam dapat pula mempengaruhi suhu normal^{1,2)}.

Sesuai dengan program pemerintah untuk meringankan masyarakat dalam menanggulangi penyakit seperti batuk, pilek, sakit kepala, saluran pernafasan, serta pencernaan maka diperkenalkan obat generik yang relatif murah harganya. Namun demikian, masyarakat masih cenderung untuk melestarikan budaya turun temurun, yaitu menanggulangi penyakit dengan pengobatan sendiri menggunakan tanaman obat. Keadaan ini dapat dilihat dengan makin meluasnya penggunaan jamu hampir di seluruh pelosok Indonesia.

Beberapa tanaman secara empiris digunakan sebagai obat penurun demam, salah satu diantaranya adalah bengle (*Zingiber purpureum* ROXB). Tanaman ini termasuk famili

Zingiberaceae, selain digunakan sebagai penurun demam secara empiris, bengle juga digunakan sebagai obat obesitas, penyakit kuning, analgetik, sembelit, rematik, dan biasa digunakan dalam bentuk tunggal atau sebagai komponen ramuan jamu (komponen ramuan jamu gendong)³⁾. Beberapa data ilmiah yang ada menunjukkan bahwa rimpang bengle mempunyai khasiat analgetik dan antiinflamasi pada hewan coba. Sehubungan dengan informasi tersebut, untuk membuktikan bahwa rimpang bengle dapat menurunkan suhu demam maka dilakukan uji antipiretik pada hewan coba^{4,5)}. Cara Weil C.S. digunakan untuk penentuan uji toksisitas akut (LD₅₀) dan penggolongan menurut Gleason apakah bahan tersebut aman digunakan atau tidak⁶⁾. Hasil uji toksisitas akut dapat digunakan sebagai penentuan dosis pada uji antipiretik. Untuk uji antipiretik menggunakan metoda B.Wahjoedi yang dimodifikasi dengan menggunakan vaksin *chotipa* sebagai pembangkit demam⁷⁾.

Bahan dan Cara

Bahan uji

Bahan uji, berupa rimpang bengle didapatkan dari Balai Penelitian Tanaman Obat

* Pusat Penelitian dan Pengembangan Farmasi Badan Litbangkes Depkes RI.

Tawangmangu, Solo. Bahan-bahan tersebut dicuci bersih, dikeringkan di dalam oven dengan panas sekitar 40° C. Setelah kering, dibuat serbuk, serbuk diayak dengan ayakan Mesh No. 48. Selanjutnya, serbuk dibuat infus sesuai dengan Farmakope Indonesia Edisi III. Pembuatan infus ini dilakukan dengan konsentrasi 10%. Jika, pemberian dosis melebihi 100mg/10 g bb maka konsentrasi infus dibesarkan, agar volume pemberian tidak melebihi batas yang dapat diterima mencit maupun tikus.

Hewan coba

Percobaan toksisitas akut (LD_{50}) menggunakan mencit jantan *Strain Wistar*. Berat antara 20 – 25 g dan umur ± 2 bulan. Percobaan antipiretik menggunakan tikus jantan *Strain Webster derived*, berat antara 150 – 200 g dan umur ± 3 bulan. Hewan tersebut didapatkan dari Lembaga Makanan Rakyat Puslitbang Gizi Jakarta. Sebelum digunakan, seluruh hewan diaklimatisasi dalam laboratorium selama satu minggu.

Cara kerja

Uji Toksisitas akut (LD_{50}) melalui 2 tahap (4)

Tahap 1 (Penjajakan)

Enam kelompok mencit @ 3 ekor menggunakan faktor kelipatan tertentu diberi dosis antara 10 – 100 mg/10 gg bb. Bahan diberikan secara i.p. Dan, observasi dilakukan selama 24 jam, kemudian dilihat jumlah hewan yang mati pada tiap kelompok. Apabila terjadi kematian 0% dan 100 %, maka dosis tahap kedua berada dalam batas tersebut. Tetapi, jika pada kelompok perlakuan tak ada yang mati sampai 100% maka dosis selanjutnya lebih besar 100 mg/10 g bb.

Tahap 2 (Penentuan LD_{50})

Enam kelompok @ 5 ekor diperlakukan sama seperti pada tahap penjajakan dan penggunaan dosis berdasar hasil pada hasil tahap 1. Observasi dengan melihat jumlah hewan mati pada kelompok percobaan setelah 24 jam, kemudian komposisi kematian dicocokkan dengan angka pada tabel Weil C.S. yang tersedia. Apabila belum ada angka yang cocok maka percobaan diulangi untuk mendapatkan angka kematian yang

cocok. Dengan demikian, harga LD_{50} dapat dicari dengan rumus sebagai berikut.

$$\text{Log } LD_{50} = \text{Log } D + d(f+1)$$

Log D - log dosis terkecil

d - log faktor kelipatan

f - angka yang tertera dalam tabel

$$\text{Batasan harga : Log } m = d \times \alpha f$$

d - log faktor kelipatan

αf - angka yang tertera dalam tabel

$$LD_{50} = \text{Log } (D \pm m)$$

Uji antipiretik

Untuk uji antipiretik ⁷⁾, menggunakan rancangan acak lengkap dengan 5 perlakuan dalam 9 kali ulangan.

Satu minggu sebelum digunakan, tikus ditempatkan pada *resttraining cage*, kemudian disuntikkan vaksin chotipa secara i.m. 0,6ml/kg bb dan diukur suhunya melalui rektum sedalam ± 3 cm dengan alat Electrothermometre merk. ELLAB tipe T-E digunakan thermocouple yang fleksibel, setiap 30 menit selama 5 jam. Satu minggu kemudian, sebelum digunakan percobaan tikus dipuasakan selama 18 jam dengan hanya diberi minum. Tikus dikelompokkan menjadi 5 kelompok lalu dimasukkan dalam *resttraining cage* kemudian tikus diukur suhu normalnya sebanyak 3 kali untuk diambil rata-rata suhunya. Selanjutnya, tikus disuntik dengan vaksin chotipa 0,6 ml/kg bb secara i.m., 2 jam kemudian bahan uji diberikan secara oral yaitu ;

- kelompok I, infus rimpang bengle 55 mg/100g bb,
- kelompok II, infus rimpang bengle 110 mg/100g bb,
- kelompok III, infus rimpang bengle 220 mg/100g bb,
- kelompok IV, asetosal 0,52 mg/100g bb, dan
- kelompok V, akuades 1ml/100g bb.

Observasi dilakukan dengan mengukur suhu badan setiap 30 menit selama 5 jam setelah pemberian bahan uji. Perubahan suhu yang terjadi selama 5 jam dianalisis secara ANOVA dan LSD.

Hasil Percobaan

Toksissitas akut (LD_{50})

Hasil uji toksisitas akut pada mencit setelah tahap ke II hasilnya cocok dengan komposisi Tabel Weil C.S. seperti tertera pada tabel 1 berikut ini.

Tabel 1
Hasil Uji Toksisitas Akut (LD₅₀)

No.	Kelompok dosis	Jumlah tiap kelompok	Kematian
1.	Infus benge 15 mg/10g bb	5	0
2.	Infus benge 22,5 mg/10g bb	5	0
3.	Infus benge 33,75 mg/10g bb	5	2
4.	Infus benge 50,63 mg/10g bb	5	3

Angka kematian yang cocok dalam tabel: 0, 0, 2, 3.

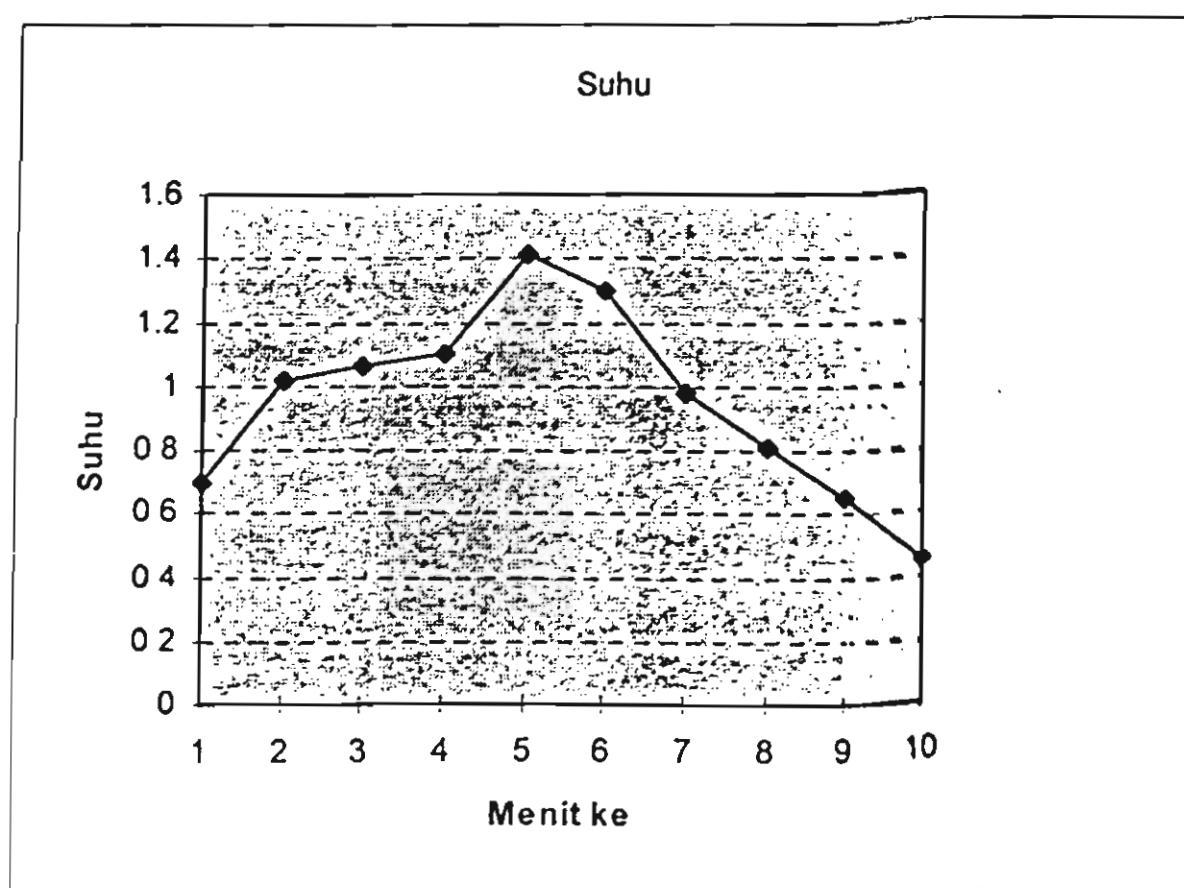
Dengan $f: 0,83333$ dan $\alpha f: 0,57735$

Didapatkan harga LD₅₀: 31,56(24,96 – 39,87) mg/10g bb.

Uji Antipiretik

Pemberian suntikan vaksin *chotipa* yang pertama kali, terlihat pada grafik 1 tertulis menit ke-1, 2, 3 sampai ke-10, dibaca menit ke-30, 60,

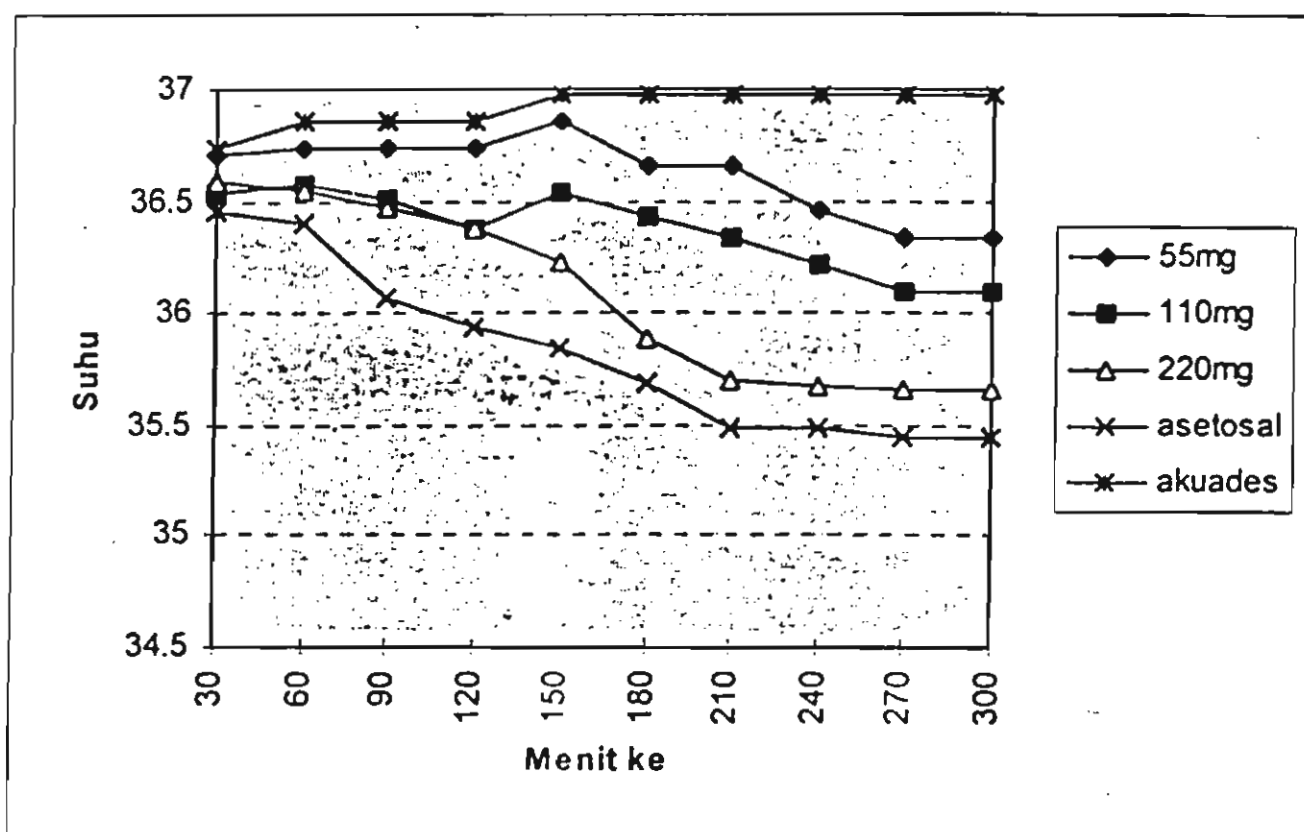
90 sampai ke-300 menunjukkan perubahan suhu tubuh yang terjadi setiap 30 menit. Suhu tikus tertinggi akibat pemberian vaksin *chotipa* pada menit ke-150 kemudian menurun hingga menit ke-300.



Grafik 1
Suhu Rata-rata Tikus yang Disuntik *Chotipa*
Setiap 30 menit dalam 5 jam/Minggu, sebelum Percobaan (°C).

Suhu tertinggi terlihat pada pengukuran ke-5 setelah penyuntikan vaksin *chotipa*. Ini berarti,

suhu demam maksimum terjadi pada menit ke-150.



Grafik 2

Perubahan Suhu Badan pada Tikus Demam setelah Diberi Infus Rimpang Bengle setiap 30 menit selama 5 jam (° C).

Grafik 2, menunjukkan perubahan suhu badan yang terjadi pada tikus demam setelah diberi bingle, asetosal dan akuades, setiap 30 menit selama 5 jam pengamatan. Tingginya suhu badan menunjukkan efek yang terjadi akibat pemberian bahan uji adalah kemampuan menurunkan suhu demam. Ini terlihat sangat bervariasi untuk tiap kelompok percobaan. Pada kelompok bingle 55mg/100g bb setelah menit ke-240 suhu badan terlihat terus

menurun. Pada kelompok bingle 220mg terlihat pola penurunan suhu badannya mendekati asetosal, dan pada menit ke-210 mulai terjadi penurunan suhu badan yang tinggi. Hal ini berarti, terjadi efek yang maksimal. Dari hasil analisis statistik, ternyata keduanya tidak berbeda. Ini berarti, pada menit tersebut infus bingle dosis 220 mg/100g bb mempunyai potensi sama dengan asetosal 0,52 mg/100g bb dalam menurunkan suhu demam.

Tabel 2

Perbedaan Rata-rata Suhu Badan Normal Tikus antara Sebelum dan Setelah Diberi Infus Bengle selama 5 jam Pengamatan (° C).

No.tikus	Kelompok Bahan Uji mg/100g bb				
	Bingle 55	Bingle 110	Bingle 220	Asetosal	Akuades
1.	1,55	1,57	0,51	0,63	2,03
2.	1,16	1,33	0,61	0,61	2,46
3.	1,48	1,79	0,59	0,70	1,98
4.	1,16	1,38	0,66	0,57	1,84
5.	1,34	1,13	0,78	0,62	1,44
6.	1,18	1,27	0,59	0,36	1,34
7.	1,26	0,84	0,72	0,33	1,28
8.	1,02	0,79	0,70	0,36	1,53
9.	1,12	0,84	0,68	0,37	1,32
Total	11,25	10,98	5,76	4,59	15,21
Rata rata ± sd	1,25 (0,17)	1,22 (0,35)	0,64 (0,10)	0,51(0,14)	1,69 (0,38)

Angka pada tabel 2, menunjukkan besarnya rata rata perubahan suhu yang terjadi, yaitu perbedaan rata-rata suhu antara suhu normal dan pemberian bahan uji selama 5 jam pengamatan. Pada ketiga kelompok bengele, terlihat adanya hubungan antara dosis dan efek yang mana, makin besar dosis yang diberikan angkanya semakin kecil. Ini berarti, kemampuan efek antipiretiknya makin tinggi. Dari analisis statistik dengan Anova dan LSD bengele dosis 220mg /100g bb mempunyai efek yang tidak berbeda dengan asetosal. Dengan demikian, dapat disimpulkan keduanya mempunyai potensi antipiretik yang sama.

Pembahasan

Uji toksisitas akut (LD_{50}) cara Weil C.S. merupakan salah satu diantara berbagai uji untuk menentukan apakah bahan tersebut aman digunakan. Mencit jantan digunakan digunakan untuk memperkecil kesalahan dalam percobaan, karena faktor variasi biologis. Dari hasil uji toksisitas akut pada mencit didapatkan angka LD_{50} 31,56 (24,96 – 39,87) mg/10g bb. Angka tersebut, apabila diekstrapolasikan menurut *Paget* dan *Barnest* menjadi 220920 (174720 – 279090) g/kg bb oral tikus. Penggolongan menurut Gleason termasuk dalam bahan *Practically Non Toxic* karena angka tersebut berada di atas 15000 mg/kg bb secara oral tikus ^{8,9)}.

Pada uji antipiretik, suntikan vaksin *chotipa* diberikan 2 kali. Pada penyuntikan pertama, bertujuan agar hewan peka terhadap suntikan vaksin, sehingga pada penyuntikan ke-2 dapat menaikkan suhu demam di atas $1^{\circ}C$ ¹⁰⁾. Dari pengukuran setiap 30 menit selama 5 jam, akan didapatkan pada menit beberapa suhu maksimum demam terjadi. Dan, hasilnya digunakan untuk penentuan saat pemberian bahan uji. Dari hasil percobaan ternyata suhu badan maksimum terjadi setelah 2 1/2 jam penyuntikan vaksin *chotipa*. Dengan demikian, pemberian bahan uji diberikan 2 jam setelah pemberian vaksin. (Grafik 1) Penggunaan pembanding asetosal yang merupakan prototipe obat analgetik antipiretik yang biasa digunakan sebagai standart untuk pengujian obat sejenis ¹¹⁾.

Mekanisme kerja obat analgesik antipiretik adalah menghambat sistim sikloogenesis yang menyebabkan asam arakidonat dan asam C_{20} tak jenuh lain menjadi endoperoksida, sehingga

pembentukan prostaglandin terhambat. Untuk mengetahui efek antipiretik dari bengele, diberikan dalam 3 dosis yaitu 55mg, 110mg, dan 220mg/100 g bb. Yang mana dosis terbesar tidak melebihi harga LD_{50} . Penurunan suhu badan yang terjadi merupakan respon akibat pemberian bahan uji. Yang mana besarnya penurunan suhu badan tersebut menunjukkan kekuatan efek antipiretiknya. Diketahui, efek maksimum asetosal pada tubuh bergantung besarnya konsentrasi yang terserap dalam plasma darah dan terjadi kira-kira dua jam setelah pemberian peroral. Pada grafik 2, terlihat efek penurunan suhu demam pada asetosal pada menit ke-210 yang berarti, pada menit tersebut mencapai efek antipiretik yang maksimal. Hal ini terlihat pada bengele 220 mg/100 g bb. Analisis secara statistik dengan Anova, pada menit tersebut tidak terlihat ada perbedaan antara kelompok asetosal dengan bengele 220 mg/100g bb, sehingga kedua kelompok perlakuan tersebut mempunyai potensi antipiretik yang sama ($P > 0,05$).

Obat golongan analgesik antipiretik seperti asetosal bekerja menghambat sintesa prostaglandin, terjadinya penurunan suhu tubuh dalam keadaan demam dengan menaikkan pengeluaran panas tubuh melalui vasodilatasi kapiler kulit. Diduga, mekanisme kerja bengele dosis 220 mg sama dengan asetosal. Dari informasi bengele mengandung minyak atsiri, flavonoid, vanillic acid, vanillin, vetaric acid, curcumin dan sebagainya. Tanaman obat seperti *Kaempheria pandurata* RIDL mengandung minyak atsiri dan dari hasil penelitian menunjukkan ada efek antipiretik ¹²⁾.

Menurut George Edward Trease, salah satu fungsi dari minyak atsiri yaitu sebagai analgetik. Dan, dari hasil informasi penelitian menunjukkan bahwa minyak atsiri *Cinnamomum burmanii* NESS ex BL (kunci) mempunyai efek analgetik pada mencit. Sementara itu, diketahui obat yang mempunyai efek analgetik juga berefek antipiretik. Dengan demikian, diduga efek antipiretik infus rimpang bengele mempunyai kandungan minyak atsiri ^{13,14,15)}.

Demam dapat disebabkan karena berbagai kemungkinan, diantaranya adanya benda asing yang masuk kedalam tubuh, seperti bakteri, virus, parasit malaria, dan sebagainya. Apakah bengele yang ternyata dapat menurunkan suhu demam juga dapat digunakan untuk pengobatan demam pada penyakit malaria perlu dibuktikan dalam penelitian lebih lanjut.

Kesimpulan

Hasil toksisitas akut (LD_{50}) infus bengele pada mencit 31,56(24,96 - 31,87)mg/10g bb, menurut penggolongan Gleason termasuk dalam bahan *Practically non Toxic*.

Infus rimpang bengele dosis 220mg/100g bb mempunyai efek antipiretik yang tidak berbeda dengan asetosal dosis 0,52 mg/100g bb.

Daftar Pustaka

1. Harrison's (1991) *Principles of internal medicines*, Ed XII Mc. Grawhill International Book C. Vol.1, 125-127
2. Garratini Silvio. A Shore Park Hust (1967). *Advance in Pharmacology*, Academic Press. New York & London. 5(169) 201-203
3. Perry LM (1980) *Medicinal Plants of East and South East Asia* Mit. Press. USA
4. Indriatni (1999) *Efek Analgesik Infusum Rimpang Bengele Terhadap Nyeri yang ditimbulkan Asam Asetat pada Mencit*. Lab. Farmakologi FK Unair Surabaya
5. Sa'roni, dkk (1999) *Penelitian Antiinflamasi Infus Rimpang Bengele (Zingiber cassumunar ROXB) pada Tikus Putih*. Puslitbang Farmasi Badan Litbang Kesehatan Depkes RI
6. Weil CS (1952) *Tables of Convinient Calculation of Median Effective Dose (LD_{50} or ED_{50}) and Instruction in their Use*. Biometric
7. Bambang Wahjoedi dkk (1976) *Efek Antipiretik Beberapa Tanaman Obat terhadap Tikus yang Didemamkan*. *Simposium Penelitian Obat Tradisional I Semarang*
8. Paget GE, Barnest JM (1964) *Evaluation of Drug Activities*, dalam Laurantche DR, Bacharach AL. *Pharmacometrics Vol.I* London Academics Press
9. Gleason MN (1969) *Clinical Toxicology of Commercial Products*; Baltimore. The William & Wilkin Co
10. B.Wahjoedi, dkk (1976) *Cara Lain Memperoleh Demam Buatan pada Percobaan Antipiretik dengan Menggunakan Tikus*. *Buletin Isfi jatim ke X no.5*
11. Sulistia Ghan, dkk (1979) *Farmakologi dan Terapi Ed IV* Bagian farmakologi FK UI
12. Pudjiastuti dkk (1992) *Uji Antipiretik Infus Rimpang Kaempheria pandurata RIDL (kunci) pada Mencit Putih*. *Simposium penelitian tumbuhan obat VII dan Mukhtar Perhiba V*. Ujung Pandang 4 - 5 Nopember.
13. Trease G.E., Eva W.C. (1973) *Pharmacognosy*. Bailliare Tundall London.
14. Norman F Faarnsworth, Nuntavan Bunyaphrathasara (1992) *Thai Medicinal Plants*. Medicinal Plant Information Center, Faculty of Pharmacy, Mahidol University, Sri-Ayuthaya Road Bangkok 10400, Thailand
15. Mulyono MW (2000) *Aktifitas Analgesik Minyak Atsiri Kayu Manis Padang (Cinnamomum burmanii NESS ex Bl) pada Mencit*. *Seminar sehari Pemanfaatan bahan obat Alami III*. Jakarta 28 Juni.