

PEMANFAATAN TEKNIK PASTEURISASI IRADIASI GAMMA UNTUK MENGHASILKAN PRODUK KESEHATAN DARI TANAMAN OBAT JENIS ZINGIBERACEAE

Nikham, Rahayu Chosdu, Ermin Katrin H, Dien Puji Rahayu,

Taty Erlinda Basjir dan Susanto

Pusat Aplikasi Teknologi Isotop dan Radiasi- BATAN
Jl. Lebak Bulus Raya No. 49, Pasar Jumat, Jakarta Selatan
Telp.021-7690709; Fax: 021-7691607

ABSTRAK

PEMANFAATAN TEKNIK PASTEURISASI IRADIASI GAMMA UNTUK MENGHASILKAN PRODUK KESEHATAN DARI TANAMAN OBAT JENIS ZINGIBERACEAE. Penggunaan obat herbal terstandar/fitofarmaka di Indonesia terus meningkat, ditandai dengan bertambah banyaknya industri jamu/farmasi yang memproduksi obat yang dibuat dari bahan alam sebagai bahan baku. Masalah yang dihadapi oleh industri yang menggunakan bahan alam sebagai bahan baku adalah kerusakan selama penyimpanan karena tercemar mikroba dan serangan serangga. Radiasi gamma dapat digunakan untuk teknik pasteurisasi, namun bila ditinjau dari aspek kandungan kimia dari bahan yang diiradiasi belum tentu menguntungkan. Dengan demikian perlu dilakukan penelitian untuk mengetahui apakah simplisia temuputih pasteurisasi radiasi masih mempunyai khasiat yang diinginkan sebagai hepatoprotektor, antikanker dan antibakteri. Rimpang temuputih dicuci, dirajang tipis kemudian dikeringkan pada suhu 60 °C dalam oven selama 10 jam dan selanjutnya dikemas dalam plastik polietilen, lalu diiradiasi pada dosis 0; 5; 7,5 dan 10 kGy dengan kecepatan dosis 8 kGy/jam. Setelah diiradiasi dibuat serbuk, dimaserasi dan diekstraksi dengan pelarut etanol dengan cara perkolasi. Parameter yang diamati adalah penapisan fitokimia dan persyaratan simplisia baik tanpa maupun yang diiradiasi. Ekstrak temuputih baik tanpa maupun yang diiradiasi juga diuji khasiatnya sebagai hepatoprotektor pada tikus, antikanker terhadap pertumbuhan sel leukemia L1210 dan diuji daya antibakteri terhadap bakteri patogen *S. typhi* dan *E. coli*. Uji daya antibakteri ekstrak temuputih terhadap bakteri tersebut dilakukan dengan metode difusi untuk menentukan zona hambat dan dilusi untuk menentukan konsentrasi hambat minimum (KHM). Hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa iradiasi gamma sampai dosis 10 kGy tidak mengubah senyawa fitokimia simplisia temuputih seperti alkaloid, saponin, tannin, fenolik, flavonoid, triterpenoid, steroid dan glikosida, serta persyaratan simplisia memenuhi MMI. Uji ekstrak dari simplisia temuputih yang diiradiasi pada dosis 10 kGy masih menunjukkan aktivitasnya sebagai hepatoprotektor. Analisis statistik indeks organ hati menggunakan Student t-test dan ANOVA menunjukkan tidak ada perbedaan bermakna antara kelompok uji 0, 5, 10 kGy dan pembanding (Cursil®) dengan kelompok kontrol ($p < 0,05$). Aktivitas sitotoksik ekstrak etil asetat maupun fraksi 3 terhadap pertumbuhan sel leukemia L1210 menunjukkan bahwa pada dosis 7,5 kGy simplisia temu putih masih berpotensi sebagai antikanker. Dosis 7,5 kGy merupakan dosis maksimum untuk tujuan pengawetan rimpang temu putih. Demikian juga ekstrak temuputih tanpa dan yang diiradiasi pada dosis 5 dan 10 kGy yang mengalami penyimpanan sampai 3 bulan dapat menghambat pertumbuhan bakteri *S. typhi* dan *E. coli*, masing-masing pada konsentrasi ekstrak 12,5%, zona hambatnya sekitar 12 mm. Sedang konsentrasi hambat minimum pada kondisi yang sama pada kedua bakteri tersebut sekitar 28%.

Kata kunci : Pasteurisasi radiasi, sinar gamma, temuputih (*Curcuma zedoaria* (Berg.) Rosc.), hepatoprotektor, antikanker, antibakteri, *Salmonella typhi*, *Escheria coli*,

PENDAHULUAN

Indonesia adalah negara tropis yang kaya dengan tumbuhan yang berkhasiat obat, diperkirakan ada sekitar 30.000 spesies tanaman obat, tetapi yang baru ditemukan sebanyak 1.000 spesies namun yang dimanfaatkan untuk membuat sediaan baru sekitar 180 spesies, itupun dukungan ilmiahnya masih sangat sedikit. Pada tahun 2003 telah terdaftar di BPOM sekitar 9.000 macam sediaan jamu, dimana sekitar 15 % adalah produk impor. Walaupun jumlah produksi

sediaan yang berasal dari bahan baku tanaman obat cukup banyak, dimana sebagian besar secara empirik juga dapat menyembuhkan penyakit, tetapi kalangan masyarakat menengah ke atas dan kalangan medis masih belum dapat menerimanya [1]. Masalah ini disebabkan kurangnya data penelitian ilmiah untuk pembuktian keamanan, khasiat dan kualitas obat. Masalah lain juga sering terjadi kegagalan ekspor disebabkan ketidaktersediaan data ilmiah, misalnya standarisasi produk dan informasi keamanan pemakaiannya yang merupakan syarat terakhir terhadap penerimaan obat asli Indonesia dalam sistem pelayanan kesehatan formal. Jika ini bisa terselesaikan maka besar sekali perputaran uang di sektor obat tradisional, misalnya tiap orang Indonesia membelanjakan Rp100.000/tahun untuk membeli obat tradisional maka omzetnya menjadi sekitar 15 trilyun rupiah per tahun jika diasumsikan penduduk Indonesia yang menggunakan obat tradisional 150 juta jiwa [2].

Pemerintah Indonesia sudah cukup besar menaruh perhatian tentang masalah tanaman obat, hal ini dapat diketahui telah dikeluarkan Undang-Undang, Peraturan Pemerintah dan Surat Keputusan yang berkaitan dengan tanaman yang berkhasiat obat [3].

Rimpang temu putih telah diketahui terdiri dari kurkuminoid (diarilheptanoid), minyak atsiri, polisakarida, dan *Ribosome Inactivating Protein* (RIP). Temu putih banyak dimanfaatkan sebagai antikanker, antioksidan, hepatoprotektor, antimikroba, antiradang, dan antitrombotik [4].

Ekstrak etanol rimpang temu putih menunjukkan aktivitas menghambat sel-sel OVCAR-3, yaitu sel kanker ovarium manusia [5], kurkumin mampu menekan proliferasi sel kanker melalui mekanisme menghambat enzim prostaglandin sintetase, biosintesis leukotrien, dan memblokir aksi enzim arakhidonat 5-lipooksigenase [6]. Dalam penelitian ini dilakukan uji khasiat simplisia temuputih sebagai hepatoprotektor pada tikus, antikanker terhadap pertumbuhan sel leukemia L1210 dan antibakteri terhadap pertumbuhan bakteri patogen yaitu *Salmonella typhi* dan *Escheridhia coli*.

Tujuan penelitian adalah untuk mempelajari aktivitas sebagai hepatoprotektor, antikanker dan antibakteri patogen pada simplisia temuputih yang diiradiasi sinar gamma. Kemudian datanya diusulkan ke BPOM KEMENKES RI sebagai data base pada dokumen Farmakope Indonesia Seri Obat Herbal.

BAHAN DAN METODE

Bahan. Bahan yang diuji ialah temuputih (*Curcumae zedoaria* (Berg.) Rosc.), yang diperoleh dari Balitro Bogor dan telah diidentifikasi di Herbarium Bogoriense LIPI Bogor. Bakteri yang digunakan ialah *Salmonella thypi* dan *Escheria coli*. Sedang antibiotik yang digunakan adalah amoksisilin dan klorampenikol. Media yang dipakai untuk uji antimikroba yaitu *Tryptone Soya Agar* (TSA) dan *Thioglycollate broth* (TB).

Alat. Perangkat perkolator dipakai untuk perkolasi sampel temuputih yang sudah dihaluskan. Rotavapor digunakan untuk memekatkan ekstrak setelah proses perkolasi. Otoklaf dipakai untuk mensterilkan media. Oven dipakai mensterilkan alat gelas. Iradiator sinar gamma sebagai alat untuk iradiasi sampel.

Iradiasi simplisia temuputih. Sampel berupa simplisia dikemas dalam kantong plastik polietilen masing-masing 500 g dalam kardus berukuran 40 x 40 cm, diiradiasi dengan menggunakan sinar gamma ^{60}Co pada dosis 0; 5; 7,5 10 dan 15 kGy dan laju dosis 8 kGy/jam.

Penapisan Kandungan Kimia Simplisia Temuputih.

a. Alkaloid. Ditimbang 500 mg serbuk simplisia temuputih, tambahkan 1 ml asam klorida dan 9 ml air, dipanaskan diatas tangas air selama 2 menit, didinginkan dan disaring. Pindahkan 3 tetes filtrat pada kaca arloji, ditambahkan 2 tetes Bouchhadat LP. Jika pada kedua percobaan tidak terjadi endapan. maka serbuk tidak mengandung alkaloid. Jika dengan Meyer LP terbentuk endapan menggumpal berwarna putih atau kuning yang larut dalam metanol P dan dengan Bouchhadat LP terbentuk endapan berwarna coklat sampai hitam, maka ada kemungkinan terdapat alkaloid, dari hasil identifikasi ternyata kandungan alkaloid dalam serbuk temuputih positif.

b. Flavonoid. Ditimbang sebanyak 1 gram serbuk temuputih ditambahkan dengan 100 ml air panas dididihkan selama 5 menit, kemudian disaring. Filtrat diambil sebanyak 5 ml, ditambahkan serbuk magnesium lalu ditambahkan pula 1 ml asam klorida pekat dan ditambahkan amil alkohol lalu dikocok kuat-kuat, dibiarkan memisah. Reaksi positif mengandung flavonoid jika terdapat warna kuning dalam amil alkohol, dari hasil identifikasi ternyata kandungan flavonoid positif.

c. Saponin. Ditimbang sebanyak 1 gram serbuk temuputih ditambahkan 100 ml air panas lalu dididihkan selama 15 menit, kemudian disaring. Selanjutnya 10 ml filtrat dimasukkan ke dalam tabung reaksi, lalu dikocok secara vertikal selama 10 detik kemudian dibiarkan selama 10 menit. Jika terbentuk busa yang stabil menunjukkan reaksi positif bahwa mengandung saponin, dari hasil identifikasi ternyata serbuk temuputih menunjukkan hasil positif mengandung saponin.

d. Tanin. Satu gram serbuk temuputih ditambah 100 ml air panas, dididihkan selama 5 menit, kemudian disaring. Filtrat ditambahkan dengan besi (III) klorida 4,5 %. Jika terbentuk reaksi berwarna biru kehitaman atau hijau lembayung menunjukkan tanin positif. Dari hasil identifikasi ternyata serbuk temuputih menunjukkan adanya kandungan tannin.

e. Pemeriksaan steroid/triterpenoid. Sebanyak 5 gram simplisia dimaserasi dalam 20 mL eter selama 2 jam kemudian disaring. Sebanyak 5 mL filtrat diuapkan dalam cawan penguap sampai kering. Ke dalam residu ditambahkan dua tetes asam asetat glasial dan setetes asam sulfat pekat. Terbentuknya warna merah-ungu menunjukkan triterpenoid, dan jika terbentuk warna hijau-biru menunjukkan steroid

f. Pemeriksaan Glikosida. Tiga gram sample di sari dengan 30 ml campuran (7 bagian volume etanol 95 % dan 3 bagian volume air dalam alat pendingin alur balik selama 10 menit, dinginkan dan saring. Pada 20 ml filtrate tambahkan 25 timbal(II) asetat 0,4 M, kocok, diamkan selama 5 menit, saring filtrate 3 kali, tiap kali dengan 20 ml campuran 3 bagian volume kloroform dan 2 bagian volume isopropanol. Pada ekstrak yang sudah terkumpul di tambahkan natrium sulfat anhidrat, saring dan uapkan pada suhu tidak lebih dari 50° C sisa yang di peroleh dilarutkan dengan 2 ml methanol.

Cara pengujian : Uapkan 0,1 ml larutan percobaan diatas penangas air, larutkan sisa dalam 5 ml anhidrat asetat. Tambahkan 10 tetes asam sulfat, terjadi warna biru atau hijau, menunjukkan adanya glikosida (reaksi Liebermann-Bourchard).

g. Pemeriksaan fenol. Dua gram sampel, ditambahkan dengan 25 ml etanol, kemudian dipanaskan selama 25 menit diatas waterbat. Filtrat panas-panas disaring lalu diuapkan di waterbat sampai kering. Sisanya ditriturasi dengan menambahkan kloroform. Bagian yang tidak larut dalam kloroform ditambahkan air. Terdapat 2 lapisan, yaitu lapisan air dan lapisan kloroform, lalu dipisahkan.

Uji Cemaran Mikroba pada Bahan yang telah Diiradiasi dan Kontrol. Penetapan Angka Lempeng Total dan Penetapan Angka Kapang dan Khamir dilakukan sesuai dengan prosedur dalam SNI [7]. Ditimbang serbuk temuputih sebanyak 1 gram, kemudian ditambahkan 99 ml larutan pengencer akua pepton 0,1% hingga diperoleh pengenceran 1:100, dihomogenkan dan dilanjutkan dengan pengenceran yang diperlukan. Dari sampel dengan tingkat pengenceran yang sesuai dipipet sebanyak 1 ml secara aseptik ke dalam cawan Petri steril lalu dituang 15-20 ml media NA (*Nutrient Agar*) sebagai media bakteri dan media PDA digunakan sebagai media kapang dan khamir.

Pembuatan Ekstrak. Ditimbang lebih kurang 100 gram serbuk kering rimpang temuputih diekstraksi secara maserasi 3 kali, tiap kali dengan 600 ml pelarut *n*-heksan lalu dipisahkan antara filtrat dan residu. Selanjutnya residu diekstraksi dengan cara yang sama dengan pelarut etil asetat dan etanol. Masing-masing filtrat *n*-heksan, etil asetat dan etanol dipekatkan dengan menggunakan *rotavapor* pada suhu lebih kurang 40 °C hingga diperoleh ekstrak yang kental. Ekstrak-ekstrak kental tersebut kemudian divakum hingga diperoleh bobot konstan.

I. Uji Praklinis Simplisia Tanpa dan Iradiasi Temuputih Sebagai Hepatoprotektor.

A. Pengujian efek hepatoprotektor ekstrak etanol temuputih yang diinduksi parasetamol.

Pengujian aktivitas penyembuhan luka terbuka dilakukan dengan menggunakan hewan percobaan berupa tikus putih betina galur *Wistar*.

1. Semua hewan uji diambil darah yang sebelumnya telah dipuasakan selama 18 jam untuk dilakukan pemeriksaan kadar enzim SGPT dan SGOT awal.
2. Tikus dikelompokkan menjadi lima kelompok, setiap kelompok terdiri dari lima ekor tikus.
 - a. Kelompok 1 adalah kelompok kontrol diberi salep larutan pembawa CMC 0,5%,
 - b. Kelompok 2 adalah kelompok pembanding diberi Cursil® dosis 25 mg/kg BB,
 - c. Kelompok 3 adalah kelompok uji diberi ekstrak temuputih 0 kGy dosis 250 mg/kg BB,
 - d. Kelompok 4 adalah kelompok uji diberi ekstrak temuputih 5 kGy dosis 250 mg/kg,
 - e. Kelompok 5 adalah kelompok uji diberi ekstrak temuputih 10 kGy dosis 250 mg/kg BB.
3. Hewan diberi sediaan uji secara serentak secara oral,
4. Satu jam setelah pemberian sediaan uji, kelompok kontrol, kelompok pembanding dan kelompok zat uji ekstrak temuputih diinduksi dengan parasetamol dosis 750 mg/kg BB.
5. Dua puluh empat jam setelah pemberian parasetamol, semua hewan diambil darah yang sebelumnya telah dipuasakan selama 18 jam untuk dilakukan pemeriksaan kadar enzim SGPT dan SGOT.

B. Pengujian efek hepatoprotektor ekstrak temuputih yang diinduksi karbon tetraklorida (CCl₄).

Tikus dikelompokkan secara acak dalam 6 kelompok. Tiap kelompok terdiri atas 5 ekor tikus. Satu kelompok normal, satu kelompok kontrol, satu kelompok pembanding dan tiga kelompok uji. Selama 7 hari tikus diadaptasikan (diklimatisasi), kemudian semua kelompok diambil darah yang sebelumnya telah dipuasakan selama 18 jam, untuk pemeriksaan SGPT dan SGOT awal, Selama 7 hari berturut-turut kelompok normal dan kontrol hanya diberi vehikulum (pembawa) sediaan zat uji CMC 0,5 %, Kelompok pembanding diberi sediaan obat pembanding dan kelompok uji diberi sediaan zat uji pada dosis 250 mg/kg, pemberian dilakukan secara per oral. Pada hari ke-8, kelompok kontrol, kelompok pembanding dan kelompok zat uji ekstrak etanol temuputih diinduksi dengan diberi Karbon Tetraklorida (CCl₄) 2 ml/Kg BB dalam paraffin cair. Kelompok normal hanya diberi paraffin cair. Pada hari ke-3 setelah pemberian karbon tetraklorida (CCl₄), semua hewan diambil darah yang sebelumnya telah dipuasakan selama 18 jam untuk dilakukan pemeriksaan kadar enzim SGPT dan SGOT setelah diberi sediaan zat uji dan diinduksi dengan karbon tetraklorida untuk pegamatan efek hepatoprotektor.

C. Pemeriksaan efek hepatoprotektor

1. Penyiapan serum pada uji biokimia klinis

Sebelum pengambilan darah, hewan percobaan dipuasakan selama 18 jam. Hewan dipanaskan di bawah sinar lampu bohiam selama \pm 15 menit. Kemudian darah diambil secara perlahan-lahan dari vena ekor tikus yang telah dipotong sebanyak 0,5-1 mL. Darah dimasukkan ke dalam tabung eppendorf kemudian disentrifugasi selama 15 menit dengan kecepatan 3000 rpm sampai diperoleh serum yang berwarna bening. Tabung yang berisi darah yang lisis tidak dapat digunakan untuk pengujian biokimia ini karena dapat mempengaruhi hasil percobaan. Serum dipisahkan dari sel-sel darah dan ditentukan kadar enzim SGPT dan SGOT.

2. Penetapan kadar SGPT dan SGOT

Serum yang diperoleh dipipet sebanyak 150 μ L dengan menggunakan mikropipet dimasukkan ke dalam tabung reaksi kemudian dicampur dengan larutan pereaksi GPT atau GOT sebanyak 750 μ L. Diinkubasikan selama 1 menit pada suhu kamar. Setelah 1 menit diukur serapannya, kemudian dibaca serapan dan kadar SGOT dan SGPT. Penetapan kadar SGPT dan SGOT dilakukan dengan menggunakan alat uji tes klinik (Clinicon 4010).

Penetapan kadar SGPT dan SGOT dilakukan 2 kali, yaitu kadar SGPT dan SGOT awal sebelum diberi induksi parasetamol atau karbon tetraklorida, dan kadar SGPT dan SGOT akhir setelah induksi parasetamol atau karbon tetraklorida.

3. Pemeriksaan makropatologi hati

Pemeriksaan makropatologi hati dilakukan pada seluruh kelompok hewan percobaan yang telah diperiksa kadar SGPT dan SGOT akhir. Semua hewan percobaan dikorbankan, dengan cara dibius menggunakan senyawa kloroform, bila sudah mati dibedah dan dikeluarkan organ hatinya. Pembedahan dilakukan untuk pengamatan organ hati. Hati yang telah dikeluarkan ditimbang, kemudian diamati warna dan ukurannya, kemudian difoto. Kemudian dihitung rasio bobot hati terhadap bobot badan tikus setelah diinduksi dengan parasetamol atau karbon tetraklorida.

$$\text{Rasio hati} = \frac{\text{Bobot hati tikus (gram)} \times 100 \%}{\text{Bobot badan tikus (gram)}}$$

II. Uji Simplisia Tanpa dan Iradiasi Sebagai Antikanker

Uji Aktivitas Sitotoksik Ekstrak Etil Asetat terhadap Sel Leukemia L1210. Pengujian aktivitas sitotoksik ekstrak etil asetat terhadap sel leukemia L1210 dilakukan dengan metode seperti pada penelitian sebelumnya [1]. Pada uji aktivitas sitotoksik ini digunakan media RPMI-

1640 yang mengandung L-glutamin, NaHCO_3 , dan *calf bovine serum*. Semua pekerjaan dilakukan di ruang steril. Sel leukemia L1210 disuspensikan ke dalam media yang telah mengandung *calf bovine serum* sehingga jumlah sel sekitar 2×10^5 sel/ml. Sel leukemia L1210 diperoleh dari *The institute of Physical and Chemical Research Japan*. Pengujian aktivitas sitotoksik dilakukan terhadap ekstrak etil asetat dari sampel kontrol dan yang diradiasi. dilakukan dengan variasi dosis 5, 10, 20, 40 dan 80 μg ekstrak/ml. Nilai IC_{50} diperoleh berdasarkan konversi nilai log konsentrasi ke bentuk anti log.

Fraksinasi Ekstrak Paling Aktif Menggunakan Kolom Kromatografi. Ekstrak etil asetat difraksinasi menggunakan kromatografi kolom dengan adsorben (fase diam) silika gel 60 mesh 70-230. Sebanyak 1 gram ekstrak etil asetat dilarutkan dalam etil asetat hingga larut kemudian ditambahkan *celite* 545, dimasukkan ke dalam kolom. Pemisahan dilakukan dengan pengeluasi sistem landaian (gradien) *n*-heksan, etil asetat dan metanol. Masing-masing eluat ditampung kurang lebih 150 ml, dipekatkan kemudian divakum hingga diperoleh bobot konstan.

Uji Aktivitas Sitotoksik Fraksi-fraksi terhadap Sel Leukimia L1210. Pengujian aktivitas sitotoksik fraksi 1-7 dari sampel kontrol dilakukan dengan cara yang sama seperti pada uji aktivitas sitotoksik ekstrak etil asetat, namun dengan variasi dosis 1, 2, 4, 8 dan 16 $\mu\text{g}/\text{ml}$.

III. Uji Simplisia Tanpa dan Iradiasi Sebagai Antibakteri Patogen

Pengukuran Zona Hambat. Silinder terbuat dari bahan *stainless steel* dietakkan di atas lempeng media TSA. Larutan ekstrak daging buah mahkota dewa dengan konsentrasi 100, 50, 25, 12,5 dan 10 % diteteskan menggunakan mikropipet sebanyak 100 μl , kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 30 °C. Pengamatan dilakukan dengan mengukur zona jernih di sekitar silinder menggunakan jangka sorong.

Penentuan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM). Larutan uji simplisia temuputih ditambahkan sebanyak 1,0 ml ke dalam 9,0 ml media TSA, digoyang supaya homogen, dituang segera ke dalam cawan petri dan dibiarkan beku, lalu diinokulasi dengan 10,0 μl suspensi bakteri, diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37 °C. Pengamatan didasarkan pada ada atau tidaknya pertumbuhan bakteri pada media TSA.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Kandungan kimia simplisia temuputih iradiasi. Hasil percobaan kandungan fitokimia dan pemeriksaan persyaratan simplisia temuputih iradiasi disajikan pada Tabel 1 dan 2. Pada Tabel ini terlihat bahwa simplisia temuputih baik yang tanpa diiradiasi maupun yang diiradiasi mengandung

senyawa kimia seperti alkaloid, saponin, tannin, fenolik, flavonoid, triterfenoid, steroid dan glikosida.

Tabel 1. Pemeriksaan simplisia temu putih diiradiasi sinar gamma pada dosis 0, 5 dan 10 kGy

No.	Uraian	Dosis (kGy)		
		0	5	10
1	Kadar air (%)	6,89	8,72	6,92
2	Kadar abu (%)	6,78	3,89	4,95
3	Kadar abu tak larut asam (%)	0	0	0
4	Kadar sari dalam air (%)	18,86	19,41	20,90
5	Kadar sari dalam alkohol (%)	12,13	17,37	16,35

Tabel 2. Uji fitokimia simplisia temu putih diiradiasi sinar gamma pada dosis 0, 5 dan 10 kGy

No.	Uraian	Dosis (kGy)		
		0	5	10
1	Alkaloid	++++	++++	++++
2	Saponin	++++	++++	++++
3	Tanin	-	-	-
4	Fenolik	++	++	++
5	Flavonoid	++++	++++	++++
6	Triterfenoid	++++	++++	++++
7	Steroid	-	-	-
8	Glikosida	++++	++++	++++

Keterangan: - = Negatif, ++ = Positif, ++++ = Positif kuat sekali

Senyawa tanin dan steroid dalam simplisia tidak terdeteksi dimungkinkan senyawa tersebut terperangkap dalam sel, mungkin dengan cara diekstraksi senyawa tersebut dapat ditarik dari dalam sel. Perlakuan iradiasi hingga dosis 10 kGy pada simplisia secara kualitatif tidak mempengaruhi perubahan kandungan kimia simplisia temuputih. Demikian juga hasil pemeriksaan simplisia tanpa dan yang diiradiasi tidak menunjukkan perbedaan berarti artinya perlakuan iradiasi tidak mempengaruhinya. Dengan demikian simplisia temuputih dapat dipakai sebagai salah satu bahan dalam produksi kosmetik, jamu dan obat tradisional.

Pengujian Efek Hepatoprotektor Ekstrak Temuputih yang Diinduksi Parasetamol

Parasetamol atau asetaminofen merupakan derivat asetanilida adalah metabolit dari fenasetin. Parasetamol mempunyai khasiat sebagai analgetik dan antipiretik. Dewasa ini pada umumnya dianggap sebagai zat antinyeri yang paling aman, juga untuk swamedikasi (pengobatan mandiri).

Efek samping pada penggunaan parasetamol tidak jarang terjadi, antara lain reaksi hipersensitivitas dan kelainan darah. Pada penggunaan kronis dari 3-4 gram sehari dapat terjadi kerusakan hati, pada dosis diatas 6 gram mengakibatkan nekrosis hati yang *irreversible*.

Hepatotoksisitas parasetamol ini disebabkan oleh metabolit-metabolitnya. Dalam hati, parasetamol ini diuraikan menjadi metabolit-metabolit toksik yang diekskresi sebagai konjugat-glukuronida dan sulfat. Kerja merusak sel hati disebabkan oleh ikatan metabolit parasetamol N-asetil-kuinonimina yang bereaksi dan terjadi akibat oksidasi mikrosomal pada protein sel hati. Pada dosis normal atau dosis lazim metabolit ini dapat ditangkal oleh *glutation* (suatu tripeptida dengan -SH) dengan pembentukan konjugat yang tidak toksik. Apabila cadangan *glutation* habis, terjadi reaksi sitotoksik. Pada dosis diatas 10 gram, persediaan peptida tersebut habis dan metabolit-metabolit mengikat pada protein dengan SH di sel-sel hati, dan terjadilah kerusakan irreversible [2]. Hasil pengukuran kadar GOT, GPT dan indeks organ hati pengujian efek hepatoprotektor ekstrak etanol temuputih yang diinduksi parasetamol dapat dilihat pada Tabel 3 – 5. Hasil perhitungan kadar relatif GOT dan GPT pengujian efek hepatoprotektor ekstrak etanol temuputih yang diinduksi parasetamol dapat dilihat pada Tabel 6 – 7. Hasil analisis statistik dengan menggunakan Student t-test dapat dilihat pada Tabel 8 – 13 dan hasil analisis statistic menggunakan ANOVA dapat dilihat pada Tabel 14.

Secara visual, dapat dilihat bahwa peningkatan kadar SGOT dan SGPT kelompok uji ekstrak temuputih 0, 5 dan 10 kGy lebih kecil jika dibandingkan terhadap kontrol. Peningkatan kadar SGPT kelompok kontrol sebesar 48,36%, dan peningkatan kadar SGPT kelompok uji 0, 5 dan 10 kGy berturut-turut adalah 27,20, 33,84 dan 15,43%. Peningkatan kadar SGOT kelompok kontrol sebesar 42,94%, dan peningkatan kadar SGPT kelompok uji 0, 5 dan 10 kGy berturut-turut adalah 22,75, 21,87 dan 20,96%, sedangkan pada kelompok pembanding mengalami penurunan sebesar 10,45%. Hasil analisis menggunakan student t-test menunjukkan bahwa tidak ada perbedaan bermakna pada kadar SGPT dan SGOT kelompok uji 0, 5 dan 10 kGy jika dibandingkan dengan kelompok kontrol ($p < 0,05$), sedangkan hasil analisis menggunakan metoda ANOVA menunjukkan pada kadar SGPT ada perbedaan bermakna antara kelompok uji dengan kelompok kontrol ($p < 0,05$). Secara visual, dapat dilihat bahwa indeks organ hati kelompok uji ekstrak 0 kGy hampir sama dengan kelompok kontrol, sedangkan terjadi penurunan indeks organ hati kelompok uji 5 kGy dan terjadi peningkatan indeks organ hati kelompok uji 10 kGy. Jika dibandingkan dengan kelompok pembanding (Cursil®), terlihat bahwa terjadi peningkatan indeks organ di semua kelompok uji 0, 5 dan 10 kGy. Hasil analisis statitik indeks organ hati menggunakan Student t-test dan ANOVA menunjukkan tidak ada perbedaan bermakna antara kelompok uji 0, 5, 10 kGy dan pembanding (Cursil®) dengan kelompok kontrol ($p < 0,05$).

Hasil pengukuran SGPT, SGOT dan indeks organ hati efek hepatoprotektor ekstrak temuputih yang diinduksi parasetamol

Tabel 3. Kadar SGPT uji ekstrak temuputih

Kelompok	No. Tikus	Kadar SGPT Awal (U/L)	Kadar SGPT Akhir (U/L)	Delta
Kontrol	1	34	65	31
	2	43	59	16
	3	39	45	6
	4	36	61	25
	5	42	54	12
rata-rata ± sd		38,80 ± 3,83	56,80 ± 7,69	18,00 ± 10,02
Ekstrak Temuputih 0 kGy dosis 250 mg/kg BB	1	39	54	15
	2	46	68	22
	3	44	49	5
	4	30	49	19
	5	72	54	-18
rata-rata ± sd		46,20 ± 15,69	54,80 ± 7,79	8,60 ± 16,20
Ekstrak Temuputih 5 kGy dosis 250 mg/kg BB	1	41	58	17
	2	48	73	25
	3	44	49	5
	4	47	58	11
	5	44	62	18
rata-rata ± sd		44,80 ± 2,77	60,00 ± 8,69	15,20 ± 7,56
Ekstrak Temuputih 10 kGy dosis 250 mg/kg BB	1	43	44	1
	2	53	48	-5
	3	40	70	30
	4	42	50	8
	5	51	46	-5
rata-rata ± sd		45,80 ± 5,81	51,60 ± 10,53	5,80 ± 14,55
Cursil® dosis 25 mg/kg BB	1	30	50	20
	2	56	57	1
	3	54	78	24
	4	55	60	5
	5	37	74	37
rata-rata ± sd		46,40 ± 12,05	63,80 ± 11,80	17,40 ± 14,64

Tabel 4. Kadar SGOT uji ekstrak temuputih

Kelompok	No. Tikus	SGOT Awal (U/L)	SGOT Akhir (U/L)	Delta
Kontrol	1	134	153	19
	2	102	177	75
	3	167	204	37
	4	102	188	86
	5	117	141	24
rata-rata ± sd		124,40 ± 27,23	172,60 ± 25,62	48,20 ± 30,46
Ekstrak Temuputih 0 kGy dosis 250 mg/kg BB	1	136	123	-13
	2	129	168	39
	3	152	156	4
	4	94	140	46
	5	94	133	39
rata-rata ± sd		121,00 ± 26,02	144,00 ± 18,01	23,00 ± 25,97
Ekstrak Temuputih 5 kGy dosis 250 mg/kg BB	1	121	122	1
	2	148	180	32
	3	78	127	49
	4	95	106	11
	5	128	144	16
rata-rata ± sd		114,00 ± 27,65	135,80 ± 28,18	21,80 ± 18,89
Ekstrak Temuputih 10 kGy dosis 250 mg/kg BB	1	139	139	0
	2	120	167	47
	3	88	109	21
	4	157	158	1
	5	107	151	44
rata-rata ± sd		122,20 ± 26,92	144,80 ± 22,48	22,60 ± 22,55
Cursil® dosis 25 mg/kg BB	1	144	125	-19
	2	153	157	4
	3	156	139	-17
	4	152	150	-2
	5	163	115	-48
rata-rata ± sd		153,60 ± 6,88	137,20 ± 17,33	-16,40 ± 20,18

Tabel 5. Data rasio bobot hati terhadap bobot badan tikus setelah diinduksi parasetamol

Kelompok	No. Tikus	Bobot Badan (g)	Bobot Hati (g)	Rasio (%)
Kontrol	1	178	7,970	4,478
	2	170	6,690	3,935
	3	166	4,810	2,898
	4	185	6,820	3,686
	5	165	6,230	3,776
rata-rata ± sd		172,80 ± 8,53	6,504 ± 1,143	3,755 ± 0,569
Ekstrak Temuputih 0 kGy dosis 250 mg/kg BB	1	194	7,350	3,789
	2	186	7,080	3,806
	3	180	6,250	3,472
	4	182	7,320	4,022
	5	182	6,870	3,775
rata-rata ± sd		184,80 ± 5,59	6,974 ± 0,449	3,773 ± 0,196
Ekstrak Temuputih 5 kGy dosis 250 mg/kg BB	1	191	7,150	3,743
	2	194	6,530	3,366
	3	174	6,050	3,477
	4	212	7,040	3,321
	5	190	7,090	3,732
rata-rata ± sd		192,20 ± 13,54	6,772 ± 0,473	3,528 ± 0,200
Ekstrak Temuputih 10 kGy dosis 250 mg/kg BB	1	160	5,330	3,331
	2	159	6,560	4,126
	3	179	6,930	3,872
	4	163	7,060	4,331
	5	176	6,610	3,756
rata-rata ± sd		167,40 ± 9,40	6,498 ± 0,686	3,883 ± 0,381
Cursil® dosis 25 mg/kg BB	1	173	5,910	3,416
	2	195	7,110	3,646
	3	185	6,200	3,351
	4	176	4,870	2,767
	5	174	6,840	3,931
rata-rata ± sd		180,60 ± 9,34	6,186 ± 0,879	3,422 ± 0,431

Hasil perhitungan kadar SGPT dan SGOT relatif efek hepatoprotektor ekstrak temuputih yang diinduksi parasetamol

Tabel 6. Kadar relatif SGPT uji ekstrak temuputih

Kelompok	No. Tikus	Kadar SGPT Awal (U/L)	Kadar SGPT Akhir (U/L)	Delta
Kontrol	1	100	191,18	91,18
	2	100	137,21	37,21
	3	100	115,38	15,38
	4	100	169,44	69,44
	5	100	128,57	28,57
rata-rata ± sd		100 ± 0,00	148,36 ± 31,15	48,36 ± 31,15
Ekstrak Temuputih 0 kGy dosis 250 mg/kg BB	1	100	138,46	38,46
	2	100	147,83	47,83
	3	100	111,36	11,36
	4	100	163,33	63,33
	5	100	75,00	-25,00
rata-rata ± sd		100 ± 0,00	127,20 ± 34,76	27,20 ± 34,76
Ekstrak Temuputih 5 kGy dosis 250 mg/kg BB	1	100	141,46	41,46
	2	100	152,08	52,08
	3	100	111,36	11,36
	4	100	123,40	23,40
	5	100	140,91	40,91
rata-rata ± sd		100 ± 0,00	133,84 ± 16,24	33,84 ± 16,24
Ekstrak Temuputih 10 kGy dosis 250 mg/kg BB	1	100	102,33	2,33
	2	100	90,57	-9,43
	3	100	175,00	75,00
	4	100	119,05	19,05
	5	100	90,20	-9,80
rata-rata ± sd		100 ± 0,00	115,43 ± 35,31	15,43 ± 35,31
Cursil® dosis 25 mg/kg BB	1	100	166,67	66,67
	2	100	101,79	1,79
	3	100	144,44	44,44
	4	100	109,09	9,09
	5	100	200,00	100,00
rata-rata ± sd		100 ± 0,00	144,40 ± 40,77	44,40 ± 40,77

Tabel 7. Kadar relatif SGOT uji ekstrak temuputih

Kelompok	No. Tikus	Kadar SGOT Awal (U/L)	Kadar SGOT Akhir (U/L)	Delta
Kontrol	1	100	114,18	14,18
	2	100	173,53	73,53
	3	100	122,16	22,16
	4	100	184,31	84,31
	5	100	120,51	20,51
rata-rata ± sd		100 ± 0,00	142,94 ± 33,20	42,94 ± 33,20
Ekstrak Temuputih 0 kGy dosis 250 mg/kg BB	1	100	90,44	-9,56
	2	100	130,23	30,23
	3	100	102,63	2,63
	4	100	148,94	48,94
	5	100	141,49	41,49
rata-rata ± sd		100 ± 0,00	122,75 ± 25,21	22,75 ± 25,21
Ekstrak Temuputih 5 kGy dosis 250 mg/kg BB	1	100	100,83	0,83
	2	100	121,62	21,62
	3	100	162,82	62,82
	4	100	111,58	11,58
	5	100	112,50	12,50
rata-rata ± sd		100 ± 0,00	121,87 ± 24,05	21,87 ± 24,05
Ekstrak Temuputih 10 kGy dosis 250 mg/kg BB	1	100	100,00	0,00
	2	100	139,17	39,17
	3	100	123,86	23,86
	4	100	100,64	0,64
	5	100	141,12	41,12
rata-rata ± sd		100 ± 0,00	120,96 ± 19,99	20,96 ± 19,99
Cursil® dosis 25 mg/kg BB	1	100	86,81	-13,19
	2	100	102,61	2,61
	3	100	89,10	-10,90
	4	100	98,68	-1,32
	5	100	70,55	-29,45
rata-rata ± sd		100 ± 0,00	89,55 ± 12,48	-10,45 ± 12,48

Pengujian Efek Hepatoprotektor Ekstrak Temuputih yang Diinduksi CCl₄

CCl₄ merupakan zat kimia yang bersifat hepatotoksik. Paparan CCl₄ menyebabkan perubahan pada populasi sel kupffer, berupa aktivasi dan peningkatan jumlah sel Kupffer di jaringan hati. Konversi CCl₄ menjadi CCl₃* oleh sitokrom p-450 menyebabkan nekrosis hepatosit. Sitokrom P-450 adalah sistem enzim oksidase yang berperan dalam metabolisme obat-obatan yang terdapat di dalam retikulum endoplasma halus sel hati (hepatosit). CCl₃* menyebabkan kerusakan membran

sel. Membran sel mempunyai struktur dasar berupa lipid dan protein. Komponen terbesar lipid membran adalah molekul fosfolipid. Molekul fosfolipid terdiri atas asam lemak tak jenuh yang mempunyai ikatan rangkap dan bersifat tidak stabil dan mudah diserang oleh radikal bebas.

Hasil pengukuran SGPT, SGOT dan indeks organ hati efek hepatoprotektor ekstrak temuputih yang diinduksi CCl₄

Tablei 8. Kadar SGPT uji ekstrak temuputih

Kelompok	No. Tikus	Kadar SGPT Awal (U/L)	Kadar SGPT Akhir (U/L)	Delta
Kontrol	1	43	74	31
	2	25	67	42
	3	30	69	39
	4	33	57	24
	5	20	40	20
rata-rata ± sd		30,20 ± 8,70	61,40 ± 13,46	31,20 ± 9,42
Ekstrak Temuputih 0 kGy dosis 250 mg/kg BB	1	64	63	-1
	2	40	43	3
	3	44	52	8
	4	39	65	26
	5	51	47	-4
rata-rata ± sd		47,60 ± 10,31	54,00 ± 9,70	6,40 ± 11,84
Ekstrak Temuputih 5 kGy dosis 250 mg/kg BB	1	47	59	12
	2	44	36	-8
	3	59	42	-17
	4	31	59	28
	5	44	49	5
rata-rata ± sd		45,00 ± 9,97	49,00 ± 10,22	4,00 ± 17,51
Ekstrak Temuputih 10 kGy dosis 250 mg/kg BB	1	57	45	-12
	2	68	56	-12
	3	58	51	-7
	4	43	38	-5
	5	40	43	3
rata-rata ± sd		53,20 ± 11,56	46,60 ± 7,02	-6,60 ± 6,19
Cursil® dosis 25 mg/kg BB	1	48	43	-5
	2	40	41	1
	3	52	42	-10
	4	50	37	-13
	5	48	35	-13
rata-rata ± sd		47,60 ± 4,56	39,60 ± 3,44	-8,00 ± 6,00

Tabel 9. Kadar SGOT uji ekstrak temuputih

Kelompok	No. Tikus	Kadar SGOT Awal (U/L)	Kadar SGOT Akhir (U/L)	Delta
Kontrol	1	110	98	-12
	2	84	144	60
	3	85	125	40
	4	99	133	34
	5	107	108	1
rata-rata ± sd		97,00 ± 12,10	121,60 ± 18,61	24,60 ± 29,48
Ekstrak Temuputih 0 kGy dosis 250 mg/kg BB	1	162	132	-30
	2	128	165	37
	3	149	164	15
	4	152	155	3
	5	136	176	40
rata-rata ± sd		145,40 ± 13,45	158,40 ± 16,53	13,00 ± 28,54
Ekstrak Temuputih 5 kGy dosis 250 mg/kg BB	1	160	150	-10
	2	144	131	-13
	3	121	160	39
	4	149	137	-12
	5	117	139	22
rata-rata ± sd		138,20 ± 18,51	143,40 ± 11,55	5,20 ± 23,89
Ekstrak Temuputih 10 kGy dosis 250 mg/kg BB	1	140	126	-14
	2	145	120	-25
	3	143	124	-19
	4	134	98	-36
	5	142	97	-45
rata-rata ± sd		140,80 ± 4,21	113,00 ± 14,32	-27,80 ± 12,64
Cursil® dosis 25 mg/kg BB	1	145	124	-21
	2	116	117	1
	3	135	129	-6
	4	135	117	-18
	5	130	113	-17
rata-rata ± sd		132,20 ± 10,57	120,00 ± 6,40	-12,20 ± 9,31

CCl_3^* merupakan ikatan rangkap asam lemak tak jenuh pada molekul fosfolipid yang menyebabkan dekomposisi oksidatif lemak, kemudian bereaksi dengan oksigen menghasilkan radikal peroksil. Radikal peroksil ini kemudian bereaksi dengan rantai samping asam lemak tak jenuh lainnya dan membentuk radikal bebas baru serta lipid peroksida lainnya, reaksi ini terjadi secara berantai. Peroksida lipid mempunyai sifat merusak membran sel yang disebut dengan efek detergen. Selain itu peroksida lipid juga dapat merusak membran retikulum endoplasma. Rusaknya membran retikulum endoplasma menyebabkan terlepasnya ribosom dari membran retikulum

endoplasma, sehingga terjadi gangguan sintesis protein dengan demikian lipid yang dihasilkan oleh sel tidak dapat diangkut keluar sel dan mengakibatkan timbunan lemak di dalam hepatosit.

Tabel 10. Data rasio bobot hati terhadap bobot badan tikus betelah diinduksi CCl_4

Kelompok	No. Tikus	Bobot Badan (g)	Bobot Hati (g)	Rasio (%)
Kontrol	1	179	5,154	2,879
	2	178	5,036	2,829
	3	196	6,406	3,268
	4	193	5,661	2,933
	5	200	6,557	3,279
rata-rata \pm sd		189,20 \pm 10,08	5,763 \pm 0,699	3,038 \pm 0,218
Ekstrak Temuputih 0 kGy dosis 250 mg/kg BB	1	170	7,950	4,676
	2	168	7,200	4,286
	3	159	7,330	4,610
	4	162	6,500	4,012
	5	155	8,450	5,452
rata-rata \pm sd		184,80 \pm 6,62	7,486 \pm 0,745	4,607 \pm 0,542
Ekstrak Temuputih 5 kGy dosis 250 mg/kg BB	1	174	8,240	4,736
	2	180	8,680	4,822
	3	183	8,060	4,404
	4	170	6,380	3,753
	5	171	7,570	4,427
rata-rata \pm sd		175,60 \pm 5,68	7,786 \pm 0,881	4,428 \pm 0,420
Ekstrak Temuputih 10 kGy dosis 250 mg/kg BB	1	165	7,440	4,509
	2	136	6,020	4,426
	3	165	7,750	4,697
	4	141	5,810	4,121
	5	165	6,370	3,861
rata-rata \pm sd		154,40 \pm 14,62	6,678 \pm 0,868	4,323 \pm 0,332
Cursil® dosis 25 mg/kg BB	1	175	7,610	4,349
	2	181	7,520	4,155
	3	189	7,840	4,148
	4	172	7,630	4,436
	5	159	7,250	4,560
rata-rata \pm sd		175,20 \pm 11,14	7,570 \pm 0,214	4,329 \pm 0,179

Sehingga jelas, hepatotoksisitas CCl_4 disebabkan karena biotransformasinya di hati oleh Sitokrom P-450 reduktase dengan kofaktor NADPH menjadi radikal CCl_3^* yang berikatan secara kovalen pada membran hepatosit dan merubah permeabilitas sel. Pada tahap lanjut terjadi jelas mitokondria dan diikuti pembengkakan progresif sel karena peningkatan permeabilitas membran

sel terhadap Na^+ , H_2O dan Ca^{2+} . Influx massif Ca^{2+} menyebabkan inaktivasi mitokondria dan enzim seluler, serta denaturasi protein, yang pada akhirnya menyebabkan kematian sel (nekrosis), terutama pada vena sentralis (perisentralis). Perbaikan kerusakan jaringan hati oleh paparan CCl_4 terjadi dalam waktu 7-10 hari, hal ini disebabkan oleh adanya respon mitosis yang cepat dari sel-sel parenkim hati yang masih utuh [8].

Hasil perhitungan kadar SGPT dan SGOT relatif efek hepatoprotektor ekstrak temuputih yang diinduksi CCl_4 .

Tabel 11. Kadar relatif SGPT uji ekstrak temuputih

Kelompok	No. Tikus	Kadar SGPT Awal (U/L)	Kadar SGPT Akhir (U/L)	Delta
Kontrol	1	100	172,09	72,09
	2	100	268,00	168,00
	3	100	230,00	130,00
	4	100	172,73	72,73
	5	100	200,00	100,00
rata-rata ± sd		100 ± 0,00	208,56 ± 40,87	108,56 ± 40,87
Ekstrak Temuputih 0 kGy dosis 250 mg/kg BB	1	100	98,44	-1,56
	2	100	107,50	7,50
	3	100	118,18	18,18
	4	100	166,67	66,67
	5	100	92,16	-7,84
rata-rata ± sd		100 ± 0,00	116,59 ± 29,66	16,59 ± 29,66
Ekstrak Temuputih 5 kGy dosis 250 mg/kg BB	1	100	125,53	25,53
	2	100	81,82	-18,18
	3	100	71,19	-28,81
	4	100	190,32	90,32
	5	100	111,36	11,36
rata-rata ± sd		100 ± 0,00	116,04 ± 46,94	16,04 ± 46,94
Ekstrak Temuputih 10 kGy dosis 250 mg/kg BB	1	100	78,95	-21,05
	2	100	82,35	-17,65
	3	100	87,93	-12,07
	4	100	88,37	-11,63
	5	100	107,50	7,50
rata-rata ± sd		100 ± 0,00	89,02 ± 11,06	-10,98 ± 11,06
Cursil® dosis 25 mg/kg BB	1	100	89,58	-10,42
	2	100	102,50	2,50
	3	100	80,77	-19,23
	4	100	74,00	-26,00
	5	100	72,92	-27,08
rata-rata ± sd		100 ± 0,00	83,95 ± 12,32	-16,05 ± 12,32

Tabel 12. Kadar relatif SGOT uji ekstrak temuputih

Kelompok	No. Tikus	Kadar SGOT Awal (U/L)	Kadar SGOT Akhir (U/L)	Delta
Kontrol	1	100	89,09	-10,91
	2	100	171,43	71,43
	3	100	147,06	47,06
	4	100	134,34	34,34
	5	100	100,93	0,93
rata-rata ± sd		100 ± 0,00	128,57 ± 33,67	28,57 ± 33,67
Ekstrak Temuputih 0 kGy dosis 250 mg/kg BB	1	100	81,48	-18,52
	2	100	128,91	28,91
	3	100	110,07	10,07
	4	100	101,97	1,97
	5	100	129,41	29,41
rata-rata ± sd		100 ± 0,00	110,37 ± 20,07	10,37 ± 20,07
Ekstrak Temuputih 5 kGy dosis 250 mg/kg BB	1	100	93,75	-6,25
	2	100	90,97	-9,03
	3	100	132,23	32,23
	4	100	91,95	-8,05
	5	100	118,80	18,80
rata-rata ± sd		100 ± 0,00	105,54 ± 18,87	5,54 ± 18,87
Ekstrak Temuputih 10 kGy dosis 250 mg/kg BB	1	100	90,00	-10,00
	2	100	82,76	-17,24
	3	100	86,71	-13,29
	4	100	73,13	-26,87
	5	100	68,31	-31,69
rata-rata ± sd		100 ± 0,00	80,18 ± 9,17	-19,82 ± 9,17
Cursil® dosis 25 mg/kg BB	1	100	85,52	-14,48
	2	100	100,86	0,86
	3	100	95,56	-4,44
	4	100	86,67	-13,33
	5	100	86,92	-13,08
rata-rata ± sd		100 ± 0,00	91,10 ± 6,77	-8,90 ± 6,77

II. Uji Simplisia Tanpa dan Iradiasi Sebagai Antikanker

Aktivitas Sitotoksik Ekstrak. Hasil uji aktivitas sitotoksik dari ketiga ekstrak temuputih menunjukkan bahwa ekstrak tersebut menghambat pertumbuhan sel leukemia L1210 dengan nilai $IC_{50} \leq 30 \mu\text{g/ml}$. Ekstrak dengan nilai $IC_{50} \leq 30 \mu\text{g/ml}$ dinyatakan aktif menghambat pertumbuhan sel leukemia L1210 [9]. Nilai IC_{50} ekstrak *n*-heksan, etil asetat, dan etanol berturut-turut 6,23; 4,71; dan 4,37 $\mu\text{g/ml}$. Ekstrak etanol memiliki nilai IC_{50} paling aktif, namun untuk analisis selanjutnya

digunakan ekstrak etil asetat karena ekstrak etil asetat memberikan pemisahan bercak yang lebih baik dibandingkan ekstrak etanol.

Aktivitas Sitotoksik Ekstrak Etil Asetat. Hasil uji aktivitas sitotoksik ekstrak etil asetat sebagai inhibitor terhadap pertumbuhan sel leukemia L1210 ditampilkan pada Tabel 3. Aktivitas sitotoksik ekstrak etil asetat yang diradiasi mengalami penurunan dibandingkan dengan kontrol (IC_{50} rata-rata 5,72 μ g/ml), ditunjukkan dengan bertambahnya nilai IC_{50} sampel 5; 7,5; 10 dan 15 kGy berturut-turut IC_{50} rata-rata 7,46; 8,86; 11,35; dan 15,34 μ g/ml.

Tabel 13. Hasil uji aktivitas sitotoksik ekstrak etil asetat dari simplisia temuputih terhadap pertumbuhan sel leukemia L1210 ulangan 1 dan ulangan 2

Dosis Iradiasi (kGy)	Ulangan 1	Ulangan 2
	IC_{50} (μ g/ml)	IC_{50} (μ g/ml)
0	4,71	6,73
5	7,72	7,21
7,5	8,50	9,22
10	11,54	11,16
15	14,92	15,77

Aktivitas sitotoksik terhadap pertumbuhan sel leukemia L1210 sampel yang diradiasi walaupun mengalami penurunan, tetapi masih dalam batas aktif dengan nilai $IC_{50} < 30$ μ g/ml [10]. Hal ini menunjukkan bahwa iradiasi gamma dapat menurunkan aktivitas sitotoksik ekstrak etil asetat rimpang temu putih terhadap pertumbuhan sel leukemia L1210. Dosis radiasi meningkat, aktivitas sitotoksik menurun, hal ini diduga adanya efek langsung radiasi pada materi berupa ionisasi, semakin besar dosis yang diberikan akan semakin besar daya ionisasinya sehingga akan menyebabkan terjadi perubahan fisika dan kimia yang dapat menyebabkan semakin menurun aktivitas senyawa tersebut [10].

Kromatografi Kolom Ekstrak Etil Asetat. Fraksinasi ekstrak etil asetat sampel yang diradiasi dengan dosis 5 kGy, 7,5 kGy, 10 kGy, dan 15 kGy serta kontrol yang tidak diradiasi dengan ulangan 1 dan ulangan 2 masing-masing menghasilkan 7 fraksi. Adapun bobot fraksi tersebut dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 14. Bobot fraksi-fraksi hasil pemisahan dengan kromatografi kolom

Fraksi	Bobot (g)				
	0 kGy	5 kGy	7,5 kGy	10 kGy	15 kGy
1	0,006	0,003	0,004	0,006	0,007
2	0,006	0,007	0,005	0,005	0,005
3	0,018	0,015	0,028	0,012	0,013
4	0,047	0,052	0,039	0,030	0,059
5	0,070	0,122	0,066	0,119	0,132
6	0,070	0,115	0,243	0,095	0,048
7	0,735	0,659	0,499	0,633	0,699

Aktivitas Sitotoksik Fraksi Etil Asetat dan Fraksi 3. Ke tujuh fraksi dari ekstrak etil asetat rimpang temuputih kontrol aktif menghambat pertumbuhan sel leukemia L1210 dengan nilai $IC_{50} < 30 \mu\text{g/ml}$. Fraksi 3 mempunyai aktivitas paling tinggi dengan nilai IC_{50} 1,43 $\mu\text{g/ml}$ diikuti fraksi 4 (1,71 $\mu\text{g/ml}$), fraksi 1 (3,13 $\mu\text{g/ml}$), fraksi 6 (3,61 $\mu\text{g/ml}$), fraksi 5 (3,70 $\mu\text{g/ml}$), fraksi 2 (3,77 $\mu\text{g/ml}$), dan fraksi 7 (5,58 $\mu\text{g/ml}$). Fraksi dengan nilai IC_{50} paling aktif, yakni fraksi 3 dipilih dan dianalisis lebih lanjut. Hasil dari uji aktivitas sitotoksik rata-rata fraksi 3 dengan dosis iradiasi 0; 5; 7,5; 10; dan 15 kGy diperlihatkan pada Tabel 5. Aktivitas sitotoksik fraksi 3 dari sampel yang diradiasi mengalami penurunan dibandingkan terhadap kontrol. Sampai dosis 7,5 kGy aktivitas sitotoksik belum menunjukkan adanya perbedaan yang menyolok dibandingkan dengan kontrol. Pada sampel yang diradiasi 10 kGy dan 15 kGy mulai terlihat perbedaan aktivitas sitotoksiknya.

Iradiasi gamma pada serbuk temu putih mengakibatkan penurunan aktivitas sitotoksik fraksi 3 terhadap pertumbuhan sel leukemia L1210, tetapi masih dalam batas aktif dengan nilai $IC_{50} \leq 30 \mu\text{g/ml}$ sesuai dengan rekomendasi *National Cancer Institute* [3]. Dosis radiasi makin besar, aktivitas sitotoksik makin menurun, hal ini diduga karena adanya efek langsung radiasi pada materi berupa ionisasi, semakin besar dosis yang diberikan akan semakin besar daya ionisasinya sehingga akan menyebabkan terjadi perubahan fisika dan kimia komponen dalam temu putih yang dapat menyebabkan semakin menurun aktivitas sitotoksiknya [2].

Tabel 15. Hasil uji aktivitas sitotoksik fraksi 3 dari simplisia temuputih terhadap pertumbuhan sel leukemia L1210

Dosis Iradiasi (kGy)	IC ₅₀ (µg/ml)
0	1,22
5	1,88
7,5	2,22
10	5,51
15	6,64

Nilai IC₅₀ rata-rata dari 2 ulangan

III. Uji Simplisia Tanpa dan Iradiasi Sebagai Antibakteri Patogen

Zona hambat ekstrak temuputih terhadap bakteri secara difusi. Hasil pengukuran zona hambat ekstrak temuputih terhadap bakteri *S. typhi* dan *E. coli* dapat disajikan pada Tabel 16. Aktivitas antimikroba ekstrak temuputih yang diiradiasi pada dosis 10 kGy dengan konsentrasi sekitar 50 % sudah cukup untuk menghambat pertumbuhan biakan bakteri. Zona hambat ekstrak simplisia temuputih berturut-turut terhadap *S. typhi* 17,0 mm dan *E. coli* 9,2 mm. Dari hasil ini dapat dilihat bahwa daya hambat ekstrak temuputih terhadap bakteri *S. typhi* mempunyai zona hambat lebih luas berarti lebih sensitif dibandingkan *E. coli*.

Tabel 16. Diameter zona hambat (mm) aktivitas ekstrak etanol simplisia Temu putih iradiasi dan tanpa iradiasi selama penyimpanan terhadap bakteri *Salmonella typhi*

Konsentrasi ekstrak (%)	0 Bulan			3 Bulan		
	0 kGy	5 kGy	10 kGy	0 kGy	5 kGy	10 kGy
12,5	10	12	11	10	12	12
25	13	14	13	12	14	14
50	15	17	17	14	18	17
100	19	20	19	17	22	21

Tabel 17. Diameter zona hambat (mm) aktivitas antibiotik kloramfenikol sebagai pembanding terhadap bakteri *Salmonella typhi*

Konsentrasi ($\mu\text{g/ml}$)	0 Bulan	3 Bulan
5	7	6
10	9	9
15	11	11
20	12	12
25	14	14
50	21	22
100	25	25

Tabel 18. Diameter zona hambat (mm) aktivitas ekstrak simplisia temuputih iradiasi dan tanpa iradiasi selama penyimpanan terhadap bakteri *Escherichia coli*

Konsentrasi ekstrak (%)	0 Bulan			3 Bulan		
	0 kGy	5 kGy	10 kGy	0 kGy	5 kGy	10 kGy
12,5	11	11	13	10	12	13
25	14	15	15	13	16	15
50	17	18	19	16	19	20
100	19	21	22	19	22	22

Tabel 19. Diameter zona hambat (mm) aktivitas antibiotik amoksisilin sebagai pembanding terhadap bakteri *Escherichia coli*

Konsentrasi ($\mu\text{g/ml}$)	0 Bulan	3 Bulan
5	6	7
10	9	9
20	12	12
25	15	15
30	17	17
50	22	22
100	28	28

Konsentrasi hambat minimum (KHM) simplisia temuputih terhadap bakteri. Hasil penentuan KHM simplisia temuputih terhadap bakteri *E. coli*, dan *S. typhi* dapat dilihat pada Tabel 20 dan 21. Data pada Tabel ini menunjukkan bahwa KHM simplisia temuputih terhadap bakteri *E. coli* 10 % dan *S. typhi* 6 %. Bakteri *S. aureus* nampaknya lebih sensitif terhadap ekstrak daging buah mahkota dewa dibanding *E. coli*, dan *S. typhi*. Dari data tersebut dapat dikatakan bahwa bakteri *E. coli* paling resisten terhadap ekstrak temuputih dibandingkan dengan *S. typhi*. Hal ini mungkin disebabkan bahwa bakteri *E. coli* mempunyai kemampuan membentuk proteksi terhadap aktivitas antimikroba ekstrak temuputih, sedangkan yang lain tidak mempunyai daya proteksi [10].

Tabel 20. Jumlah bakteri hidup (sel/ml) pada konsentrasi hambat minimum simplisia temuputih iradiasi dan tanpa iradiasi selama penyimpanan terhadap bakteri *Salmonella typhi*

Konsentrasi ekstrak (%)	0 Bulan			3 Bulan		
	0 kGy	5 kGy	10 kGy	0 kGy	5 kGy	10 kGy
6	~	~	~	~	~	~
8	~	~	~	~	~	~
10	~	~	~	~	~	~
11	~	~	~	~	~	~
12	$2,88 \times 10^4$	$2,04 \times 10^4$	$2,12 \times 10^4$	$2,8 \times 10^4$	$2,42 \times 10^4$	$2,83 \times 10^4$
13	$2,53 \times 10^4$	$1,96 \times 10^4$	$1,96 \times 10^4$	$2,42 \times 10^4$	$2,17 \times 10^4$	$1,98 \times 10^4$
14	$2,01 \times 10^4$	$1,82 \times 10^4$	$1,32 \times 10^4$	$1,85 \times 10^4$	$1,76 \times 10^4$	$1,55 \times 10^4$
15	$1,31 \times 10^4$	$1,32 \times 10^4$	$1,27 \times 10^4$	$1,47 \times 10^4$	$1,44 \times 10^4$	$1,45 \times 10^4$
16	$1,17 \times 10^4$	$1,14 \times 10^4$	$9,1 \times 10^3$	$1,26 \times 10^4$	$1,13 \times 10^4$	$8,8 \times 10^3$
17	$9,2 \times 10^3$	$9,8 \times 10^3$	$8,7 \times 10^3$	$9,8 \times 10^3$	$9,1 \times 10^3$	$8,3 \times 10^3$
18	$8,1 \times 10^3$	$8,7 \times 10^3$	$7,6 \times 10^3$	$7,8 \times 10^3$	$7,3 \times 10^3$	$6,8 \times 10^3$
19	$7,8 \times 10^3$	$5,6 \times 10^3$	$6,3 \times 10^3$	$7,5 \times 10^3$	$6,3 \times 10^3$	$4,7 \times 10^3$
20	$4,5 \times 10^3$	$3,2 \times 10^3$	$3,8 \times 10^3$	$6,2 \times 10^3$	$6,7 \times 10^3$	$3,4 \times 10^3$
22	$2,4 \times 10^3$	$2,5 \times 10^3$	$2,1 \times 10^3$	$3,2 \times 10^3$	$1,8 \times 10^3$	$1,6 \times 10^3$
24	$1,4 \times 10^3$	$8,0 \times 10^2$	$7,0 \times 10^2$	$2,4 \times 10^2$	$1,1 \times 10^2$	$9,0 \times 10^2$
26	$8,0 \times 10^2$	$8,0 \times 10^2$	$4,0 \times 10^2$	$1,1 \times 10^2$	$6,0 \times 10^2$	$4,0 \times 10^2$
28	$6,0 \times 10^2$	$4,0 \times 10^2$	$1,0 \times 10^2$	$9,0 \times 10^2$	$2,0 \times 10^2$	--

Ket. : ~ : menunjukkan jumlah koloni pada cawan petri > 300 koloni

--: menunjukkan tidak adanya pertumbuhan koloni bakteri

Antimikroba adalah zat yang dapat membasmi mikroba, khususnya mikroba yang merugikan manusia. Zat antimikroba harus mempunyai sifat toksisitas selektif setinggi mungkin. Artinya zat ini harus bersifat toksik untuk mikroba, tetapi tidak untuk manusia [11].

Aktivitas antimikroba baik *in vivo* maupun *in vitro* memiliki dua tipe kerja yaitu secara bakteristatik dan bakteriosida. Senyawa yang bekerja secara bakteristatik bersifat menghambat pertumbuhan bakteri, akan tetapi tidak membunuhnya. Sebaliknya yang bersifat bakteriosida akan merusak mikroba secara *irreversible* [11]. Adapun mekanisme kerja antimikroba adalah menghambat biosintesis dinding sel, meningkatkan permeabilitas membran sel, dan mengganggu

sintesis protein sel, sehingga menghambat pertumbuhan atau menyebabkan kematian sel mikroba. Umumnya, antimikroba yang mempengaruhi pembentukan dinding sel atau permeabilitas membran sel bekerja sebagai bakteriosida, sedangkan yang mempengaruhi sintesis protein bekerja sebagai bakteriostatik. Intensitas kerja suatu antimikroba dinyatakan dengan berapa kadar yang dibutuhkan untuk tercapainya suatu efek antimikroba. Umumnya intensitas kerja dinyatakan dalam KHM. Artinya adalah kadar batas suatu antimikroba yang secara *in vitro* bekerja terhadap mikroba tertentu. Hal ini bergantung kepada masing-masing kepekaan mikroba, jadi KHM suatu antimikroba bervariasi tergantung jenis mikroba. Di samping itu KHM bergantung kepada banyaknya inokulum serta media yang dipakai pembiakan mikroba [12].

Tabel 21. Jumlah koloni dari konsentrasi hambat minimum simplisia temuputih iradiasi dan tanpa iradiasi selama penyimpanan terhadap bakteri *Escherichia coli*

Konsentrasi ekstrak (%)	0 Bulan			3 Bulan		
	0 kGy	5 kGy	10 kGy	0 kGy	5 kGy	10 kGy
6	~	~	~	~	~	~
8	~	~	~	~	~	~
10	~	~	~	~	~	~
11	~	~	~	~	~	~
12	$2,47 \times 10^4$	$2,21 \times 10^4$	$2,11 \times 10^4$	$2,53 \times 10^4$	$2,37 \times 10^4$	$2,03 \times 10^4$
13	$2,18 \times 10^4$	$1,8 \times 10^4$	$1,72 \times 10^4$	$2,31 \times 10^4$	$2,08 \times 10^4$	$2,01 \times 10^4$
14	$1,74 \times 10^4$	$1,52 \times 10^4$	$1,53 \times 10^4$	$2,03 \times 10^4$	$1,89 \times 10^4$	$1,91 \times 10^4$
15	$1,48 \times 10^4$	$1,27 \times 10^4$	$1,04 \times 10^4$	$1,79 \times 10^4$	$1,45 \times 10^4$	$1,64 \times 10^4$
16	$1,02 \times 10^4$	$1,18 \times 10^4$	$9,3 \times 10^3$	$1,52 \times 10^4$	$1,17 \times 10^4$	$1,27 \times 10^4$
17	$8,9 \times 10^3$	$9,1 \times 10^3$	$8,4 \times 10^3$	$1,23 \times 10^4$	$1,03 \times 10^4$	$9,9 \times 10^3$
18	$7,3 \times 10^3$	$6,3 \times 10^3$	$5,8 \times 10^3$	$1,05 \times 10^4$	$8,9 \times 10^3$	$7,6 \times 10^3$
19	$6,2 \times 10^3$	$5,4 \times 10^3$	$3,7 \times 10^3$	$9,8 \times 10^3$	$6,7 \times 10^3$	$6,3 \times 10^3$
20	$4,2 \times 10^3$	$3,9 \times 10^3$	$2,1 \times 10^3$	$7,9 \times 10^3$	$4,9 \times 10^3$	$3,8 \times 10^3$
22	$2,9 \times 10^3$	$1,4 \times 10^3$	$1,5 \times 10^3$	$5,6 \times 10^3$	$2,8 \times 10^3$	$2,2 \times 10^3$
24	$9,0 \times 10^2$	$9,0 \times 10^2$	$1,0 \times 10^3$	$1,5 \times 10^3$	$7,0 \times 10^2$	$9,0 \times 10^2$
26	$4,0 \times 10^2$	$4,0 \times 10^2$	$3,0 \times 10^2$	$8,0 \times 10^2$	$4,0 \times 10^2$	$2,0 \times 10^2$
28	$1,0 \times 10^2$	$2,0 \times 10^2$	--	$5,0 \times 10^2$	$1,0 \times 10^2$	--

Ket. : ~ : menunjukkan jumlah koloni pada cawan petri > 300 koloni

-- : menunjukkan tidak adanya pertumbuhan koloni bakteri

KESIMPULAN

1. Simplisia temuputih yang diiradiasi maupun tanpa diiradiasi mengandung senyawa alkaloid, flavonoid, saponin dan tanin.
2. Hasil analisis statistik indeks organ hati menggunakan Student t-test dan ANOVA menunjukkan tidak ada perbedaan bermakna antara kelompok uji 0, 5, 10 kGy dan pembanding (Cursil®) dengan kelompok kontrol ($p < 0,05$).

3. Berdasarkan hasil penelitian yang diperoleh, aktivitas sitotoksik ekstrak etil asetat maupun fraksi 3 terhadap pertumbuhan sel leukemia L1210 menunjukkan bahwa pada dosis 7,5 kGy rimpang temu putih masih berpotensi sebagai antikanker. Dosis 7,5 kGy merupakan dosis maksimum untuk tujuan pengawetan rimpang temuputih.
4. Zona hambat ekstrak simplisia temuputih pada konsentrasi 100% yang diiradiasi pada dosis 10 kGy masing-masing terhadap bakteri *E. coli* 11,0 mm, dan *S. typhi* 17,0 mm. Nilai KHM ekstrak temuputih yang diiradiasi pada dosis 10 kGy, terhadap bakteri *E. coli* 10 % dan *S. typhi* 6 %.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih disampaikan kepada Instalasi Iradiator Gamma PATIR BATAN yang telah membantu iradiasi simplisia temuputih. Penulis juga mengucapkan terima kasih sekali kepada Ibu Dr. Afifah B. Sutjiatmo M.Si. Apt., dkk. dari Lab Farmakologi, Jurusan Farmasi Fakultas MIPA, Universitas Jenderal Ahmad Yani Bandung yang telah membantu mengerjakan penelitian uji praklinis hingga selesai.

DAFTAR PUSTAKA

1. ANONOM, 1991, Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Pedoman Pengujian Dan Pengembangan Fitofarmaka : Penapisan Farmakologi, Pengujian Fitofarmaka Dan Pengujian Klinik, hal :77-80, Jakarta.
2. MUTSCHLER, ERNST, 1991, Dinamika Obat, Buku Ajar Farmakologi dan Toksikologi, Edisi Kelima, Penerbit ITB, hal. 201-203, Bandung,
3. NOR AINI, A.S., MERRINA, A., STANLASS, J. and SREERAMANAN, S., Cytotoxic potential on breast cancer cells using selected forest species found in Malaysia, *Int. Cancer Res.*, 4, 2008, 103-109.
4. WINDONO, T., dan PARFIATI, N., *Curcuma zedoaria* (Bergius) Roscoe, kajian pustaka kandungan kimia dan aktivitas farmakologik. Dalam: Prosiding Seminar Nasional Tumbuhan Obat Indonesia XXI, 2002. Surabaya: Fakultas Farmasi Universitas Surabaya; 2002. hal. 247-255.
5. SYU, WJ *et al.* Cytotoxicity of curcuminoid and some novel compounds from *Curcuma zedoaria*. *Journal of Natural Product*, 1998; 61 (12): 1532-1534.
6. SURH, Y., Molecular mechanism of chemopreventive effects of selected dietary and medicinal phenolic substances. *Br. J. Cancer*, 1999; 80 (1-2): 110-116.
7. LESWARA, N.D., Radiofarmasi. Depok: Penerbit UI; 2005, 117, 119-120.
8. ARUN, N., N. NALINI, Efficacy of turmeric on blood sugar and polyol pathway in diabetic albino rats, *Plant Foods for Human Nutrition*, 2002, 57: 41-52, Netherlands.

9. WINARNO, H. and WINARNO, E.K., Benzophenone glucoside isolated from the ethyl acetate extract of the bark of mahkota dewa [*Phaleria macrocarpa* (Scheff.) Boerl], *Indo. J. Chem.*, 9 (1), 2009, 142-145.
10. LORIAN, V., *Antibiotics in Laboratory Medicine*, The Willams and Wilkins Company, Baltimore (1980) 6 – 22
11. GANISWARA, G. S., (eds.), *Farmakologi dan Terapi*, Ed. 4, Fakultas Kedokteran Bagian Farmakologi, Jakarta (1995) 571 – 573.
12. JAWETZ, E., MELNICK, J.L., and ADELBERG, E.A. , *Mikrobiologi Kedokteran*, Editor IRAWATI, S., Penerbit Buku Kedokteran EGC (1995) 249 – 251.