

Sitotoksitas terhadap Sel Leukemia L1210 dan Profil Kromatogram dari Serbuk Temu Putih *Curcuma zedoaria* (Berg.) Rosc. yang Diradiasi

(Cytotoxicity against Leukemia L1210 Cells and Chromatogram Profiles of Radiated White Turmeric *Curcuma Zedoaria* (Berg.) Rosc.)

ERMIN KATRIN W.^{1*}, JOHANS RICHARD ALBERT², SWASONO R. TAMAT²,
SUSANTO¹, HENDIG WINARNO¹

¹Laboratorium Bahan Kesehatan PATIR- BATAN, Jl. Lebak Bulus Raya No. 49, Jakarta 12440

²Fakultas Farmasi, Universitas Pancasila, Srengseng Sawah, Jagakarsa, Jakarta 12640

Diterima 15 Januari 2012, Disetujui 2 Februari 2012

Abstrak: Rimpang temu putih *Curcuma zedoaria* (Berg.) Rosc. bermanfaat untuk mengobati penyakit kanker. Temu putih sangat rentan terhadap kontaminasi mikroba oleh karena itu diperlukan teknik iradiasi gamma untuk menurunkan kontaminasi mikroba agar masa simpannya menjadi lebih lama. Iradiasi gamma dilakukan terhadap serbuk rimpang temu putih diiradiasi dengan sumber kobalt-60 pada dosis 5; 7,5; 10; dan 15 kGy. Kemudian sampel dimacerasi secara bertahap dengan *n*-heksan, etil asetat, dan etanol. Penelitian ini bertujuan untuk mempelajari pengaruh radiasi gamma melalui pemeriksaan beberapa parameter, yaitu sitotoksitas ekstrak etil asetat dan fraksi aktif rimpang temu putih terhadap sel leukemia L1210, serta profil KLT, dan KCKT dari fraksi aktif yang berpotensi sebagai antikanker. Ekstrak etil asetat paling aktif dalam menghambat pertumbuhan sel leukemia L1210 dengan nilai IC_{50} 4,71 $\mu\text{g/mL}$. Ekstrak etil asetat sampel yang diiradiasi dan kontrol difraksinasi menggunakan kolom kromatografi dan masing-masing diperoleh 7 fraksi (Fr). Fraksi 3 dari sampel kontrol merupakan fraksi paling aktif dengan nilai IC_{50} sebesar 1,43 $\mu\text{g/mL}$. Nilai IC_{50} Fr 3 menurun seiring meningkatnya dosis iradiasi dan profil kromatogram Fr 3 sampel yang diradiasi dengan dosis > 5 kGy mengalami perubahan. Dosis radiasi maksimum untuk pengawetan temu putih adalah 7,5 kGy, pada dosis tersebut khasiat antikankernya tetap dipertahankan.

Kata kunci: sel L1210, kromatogram, radiasi, sitotoksitas, temu putih, *Curcuma zedoaria* (Berg.) Rosc.

Abstract: White tumeric *Curcuma zedoaria* (Berg.) Rosc. is useful for treating cancer disease. It is very susceptible to microbial, therefore gamma irradiation technique to reduce microbial contamination is necessary in order to extend the storing period. Gamma irradiation on white tumeric was carried out by cobalt-60 source at doses of 5, 7.5, 10, and 15 kGy. Then they gradually were macerated with *n*-hexane, ethyl acetate, and ethanol. The purpose of this research was to study the effect of gamma irradiation by observing parameters on the cytotoxic activity of ethyl acetate extract and active fraction of white tumeric rhizome against L1210 leukemia cells, also profiles of thin layer and HPLC chromatograms of active fraction as anticancer agent. Ethyl acetate extract of irradiated and control samples were the most active to inhibit the growth of L1210 leukemia cells with IC_{50} value of 4.71 $\mu\text{g/mL}$. Ethyl acetate extracts from irradiated and control samples were fractionated using column chromatography and obtained 7 fractions (Fr), respectively. Fraction 3 of control sample was the most active fraction with IC_{50} values 1.43 $\mu\text{g/ml}$. The IC_{50} value of Fr 3 decreased with increasing irradiation doses and chromatogram profiles of radiated samples with doses of > 5 kGy were changed. The maximum radiation dose for white turmeric preservation is 7.5 kGy, at this dose its anticancer efficacy was maintained.

Keywords: L1210 cells, chromatogram, irradiated, cytotoxicity, *Curcuma zedoaria* (Berg.) Rosc.

* Penulis korespondensi, Tlp. 021-7690709 Ext. 179
e-mail: erminkk@batan.go.id

PENDAHULUAN

KESADARAN akan bahaya senyawa kimia yang terkandung dalam obat modern semakin membuka mata betapa penting dan bernilainya obat tradisional yang telah diwariskan secara turun-temurun oleh nenek moyang. Bahan-bahan untuk itu pun telah tersedia secara berlimpah di alam Indonesia⁽¹⁾. Di Indonesia dikenal lebih dari 20.000 jenis tumbuhan obat, namun baru 1.000 jenis yang sudah didata dan baru sekitar 300 jenis yang sudah dimanfaatkan untuk pengobatan tradisional⁽²⁾.

Salah satu tanaman Indonesia yang digunakan sebagai obat adalah temu putih *Curcuma zedoaria* (Berg.) Rosc. suku *Zingiberaceae*. Bagian tanaman yang digunakan untuk obat adalah rimpangnya. Rimpang berwarna putih dan dagingnya berasa pahit dengan warna kuning muda. Rimpang temu putih telah diketahui mengandung kurkuminoid (diarilheptanoid), minyak atsiri, polisakarida, dan *ribosome inactivating protein* (RIP). Kurkuminoid meliputi kurkumin, demetoksikurkumin, bisdemetoksikurkumin, dan 1,7-bis(4-hidroksifenil)-1,4,6-heptatrien-3-on. Minyak atsiri terdiri dari monoterpen (α -pinen, D-kamfen, D-borneol, D-kamfor, dan sineol) dan seskuiterpen (bisabolen, elema, germakran, guaian, dan golongan spiro-lakton). Temu putih banyak dimanfaatkan sebagai antikanker, antioksidan, hepatoprotektor, antimikroba, antiradang, dan antitrombotik⁽³⁾.

Pembuktian secara ilmiah mengenai khasiat tanaman ini melalui penelitian telah banyak dilakukan antara lain, ekstrak etanol rimpang temu putih menunjukkan aktivitas menghambat sel kanker ovarium manusia OVCAR-3⁽⁴⁾, kurkumin mampu menekan proliferasi sel kanker melalui mekanisme menghambat enzim prostaglandin sintetase, biosintesis leukotrien, dan memblokir aksi enzim arakhidonat 5-lipooksigenase⁽⁵⁾. Selain menghambat karsinogenitas pada kanker ovarium, ekstrak etanol rimpang temu putih juga mampu menghambat karsinogenitas tumor paru secara signifikan pada dosis 750 mg/kg BB pada fase pasca inisiasi mencit betina yang diinduksi benzo[α]piren⁽⁶⁾. Dari penelitian lainnya juga diketahui bahwa kurkumin telah diisolasi dari tanaman *Curcuma sp.*, dan turunan alkil kurkumin berhasil disintesis⁽⁷⁾. Uji aktivitas sitotoksik terhadap sel myeloma dengan metode *direct counting* menggunakan *tryphan blue* memperoleh nilai IC_{50} berturut-turut untuk kurkumin, 4-metilkurkumin, 4-etilkurkumin, 4-propilkurkumin, 4-isopropilkurkumin, 4-benzilkurkumin, 4-fenilkurkumin, dan 4-parametilfenilkurkumin adalah 8,8 ppm, 3,5 ppm, 2,9 ppm, 2,2 ppm, 4,2 ppm, 3,9 ppm, > 100 ppm, dan > 100 ppm. *Inhibition Concentration fifty* (IC_{50}) adalah konsentrasi zat uji yang dapat menghambat

perkembangbiakan sel sebanyak 50% setelah masa inkubasi 48 jam.

Saat ini serbuk dan ramuan jamu rerimpangan telah banyak beredar di pasaran. Hasil pengamatan total bakteri enterik pada jamu siap olah menunjukkan antara $4,0-5,6 \times 10^6$ sel/g, sedangkan pada jamu siap saji menunjukkan antara $5,3-8,5 \times 10^6$ sel/g⁽⁸⁾. Pada rerimpangan paska panen terdapat bakteri enterik yang umumnya mengandung toxin⁽⁸⁾ dan harus dicuci, dipotong-potong dan dikeringkan dengan cara yang benar. Serbuk rerimpangan termasuk temu putih diawetkan oleh beberapa perusahaan jamu dengan berbagai cara, salah satunya dengan teknik iradiasi gamma untuk mengurangi jumlah mikroba^(9,10), akan tetapi belum dipelajari apakah iradiasi gamma dapat mempengaruhi khasiat zat aktif dalam serbuk tersebut. Oleh karena itu perlu dilakukan penelitian untuk mempelajari pengaruh iradiasi gamma terhadap aktivitas sitotoksik fraksi aktif rimpang temu putih menggunakan sel leukemia L1210 dan profil kromatogram lapis tipis fraksi aktifnya, dengan harapan diperoleh dosis iradiasi maksimum untuk pengawetan serbuk rimpang temu putih, yang masih dapat mempertahankan aktivitas sitotoksik berdasarkan uji menggunakan sel leukemia L1210.

BAHAN DAN METODE

BAHAN. Rimpang temu putih *Curcuma zedoaria* (Berg.) Rosc. yang diperoleh dari Balai Penelitian Tanaman Obat dan Aromatik Bogor, *n*-heksan *p.a.*, etil asetat *p.a.*, etanol *p.a.*, metanol *p.a.*, kloroform *p.a.*, *Nutrient Agar*, *Potato Dextrose Agar*, akua pepton 0,1 %, RPMI-Medium 1640 (Gibco), *calf bovine serum* (Gibco), sel leukemia L1210 diambil dari tikus yang diinduksi metilklorantren pada mencit betina strain DBA/2 yang awalnya diperoleh dari *The Institute of Physical and Chemical Research Japan, tryphan blue*, silika gel 60 mesh 70-230 (Merck), *celite* 545 (Merck), lempeng silika GF₂₅₄ (Merck), larutan penampak bercak serum sulfat 1% dalam H₂SO₄ 10%, metanol HPLC grade (Prolabo).

Alat. Iradiator Gamma Karet Alam, kromatografi cair kinerja tinggi (Shimadzu LC 6-A), inkubator, oven, otoklaf, penguap putar vakum/rotavapor (Buchi), lampu UV (254 nm), pemanas listrik (*hot plate*), ultrasonikator, timbangan analitik, kolom kromatograf, mikroskop (Nikon), cawan petri, alat-alat gelas, *multi well plate tissue's culture, improved Neubauer haemocytometer*.

METODE. **Persiapan dan Iradiasi Rimpang Temu Putih.** Rimpang temu putih dicuci bersih, dipotong tipis-tipis, dikeringkan sampai kadar airnya kurang dari 10% lalu dihaluskan. Serbuk kering rimpang temu putih ditimbang sebanyak 10 bungkus dengan

berat 110 g/kantong plastik polietilen lalu ditutup rapat dengan mesin sealer. Bahan diiradiasi dengan sumber ^{60}Co pada dosis 5 kGy, 7,5 kGy, 10 kGy, dan 15 kGy. Percobaan dilakukan dua kali pengulangan. Aktivitas irradiator yang digunakan 140 kCi dengan laju dosis 10 kGy/jam dan digunakan dosimeter larutan standar Fricke untuk mengkalibrasi dosis radiasi, yang terdiri dari $\text{Fe}(\text{NH}_4)_2(\text{SO}_4) \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 0,001 M, NaCl 0,001 M dan H_2SO_4 0,4 M.

Pembuatan Ekstrak. Serbuk kering rimpang temu putih seberat 100 gram dimaserasi bertahap dengan pelarut *n*-heksan, etil asetat dan etanol masing-masing 3 kali (@ 600 mL), kemudian filtrat dikumpulkan. Masing-masing filtrat dipekatkan dengan menggunakan rotavapor pada suhu lebih kurang 40°C hingga diperoleh ekstrak yang kental, lalu divakum dalam desikator oven dan ditimbang.

Uji Sitotoksitas. Ekstrak etil asetat dari sampel kontrol dan sampel yang diradiasi dievaluasi aktivitas penghambatannya terhadap pertumbuhan sel leukemia L1210. Sel leukemia L1210 ditumbuhkan dalam media RPMI 1640 yang mengandung NaHCO_3 suplemen *calv bovine serum* 15% (jumlah sel awal 2×10^5 sel/mL). Sel dikultivasi dalam *multi well plate tissue's culture* dengan dan tanpa zat uji pada suhu 37°C dalam inkubator CO_2 5% selama 48 jam. Variasi konsentrasi sampel uji 5, 10, 20, 40 dan 80 µg ekstrak/mL dalam pelarut metanol. Setelah itu sedikit sampel diambil untuk menghitung proliferasi dan viabilitas selnya dengan metode *tryphan blue*⁽¹¹⁾. Ekstrak dinyatakan aktif menghambat pertumbuhan sel kanker apabila memiliki nilai $\text{IC}_{50} \leq 20$ µg/mL⁽¹²⁾.

Pemisahan Ekstrak, KLT dan Uji Sitotoksitas Fraksi-fraksi. Ekstrak aktif menghambat pertumbuhan sel leukemia L1210 dipisahkan menggunakan kromatografi kolom dengan adsorben (fase diam) silika gel 60 mesh 70-230. Pemisahan dilakukan dengan pengelusi sistem landaian *n*-heksan-etil asetat-metanol dengan perbandingan yang bervariasi. Pemisahan ekstrak ini dilakukan untuk semua ekstrak aktif dari sampel yang tidak maupun yang diiradiasi. Fraksi-fraksi yang diperoleh dari sampel kontrol dianalisis secara kualitatif dengan kromatografi lapis tipis (KLT), sehingga fraksi-fraksi dengan pola yang sama dapat digabung. Masing-

masing fraksi dipekatkan kemudian divakum dalam desikator oven hingga kering dan ditimbang beratnya. Pengujian sitotoksitas fraksi-fraksi yang diperoleh dari sampel kontrol dilakukan dengan cara yang sama seperti pada uji sitotoksitas ekstrak etil asetat, akan tetapi dengan variasi konsentrasi 1 µg/mL, 2 µg/mL, 4 µg/mL, 8 µg/mL, dan 16 µg/mL. Fraksi paling aktif hasil fraksinasi kolom dari sampel kontrol dan yang diradiasi selanjutnya dianalisis dengan KLT.

Analisis kualitatif fraksi aktif dengan kromatografi cair kinerja tinggi (KCKT). Pemeriksaan profil kromatogram fraksi paling aktif menghambat pertumbuhan sel leukemia L1210 dari sampel kontrol dan yang diradiasi dilakukan menggunakan kromatografi cair kinerja tinggi (KCKT). Fraksi paling aktif dengan konsentrasi 0,08 mg/mL disaring dengan membran filter berukuran 0,45 µm. Sebanyak 20 µL larutan uji diinjeksikan ke KCKT menggunakan campuran fase gerak metanol-akuabides (7:3) dengan kolom varian microsorb MV 100-5, C-18 (250 x 4,6 mm) dan detektor UV pada panjang gelombang 210 nm.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pembuatan Ekstrak. Hasil ekstraksi dari 100 gram serbuk kering rimpang temu putih *Curcuma zedoaria* (Berg.) Rosc. pada dosis 0 kGy, 5 kGy, 7,5 kGy, 10 kGy, dan 15 kGy dapat dilihat pada Tabel 1.

Bobot ekstrak *n*-heksan, etil asetat dan etanol dari rimpang temu putih tidak mengalami perubahan akibat iradiasi gamma sampai dosis 15 kGy.

Sitotoksik Ekstrak. Hasil uji sitotoksitas dari ketiga ekstrak (Tabel 2) menunjukkan bahwa ekstrak-ekstrak tersebut menghambat pertumbuhan sel leukemia L1210 dengan nilai $\text{IC}_{50} \leq 20$ µg/mL. Ekstrak etil asetat dan ekstrak etanol memiliki nilai IC_{50} 4,71 dan 4,37 µg/mL, termasuk kategori paling aktif berpotensi sebagai antikanker, namun untuk analisis selanjutnya digunakan ekstrak etil asetat karena ekstrak etil asetat memberikan pemisahan bercak yang lebih baik dibanding ekstrak etanol sehingga memudahkan untuk analisis selanjutnya.

Aktivitas Sitotoksik Ekstrak Etil Asetat. Hasil uji sitotoksitas ekstrak etil asetat sebagai

Tabel 1. Berat ekstrak rimpang temu putih.

Bobot serbuk kering (g)	Dosis radiasi (kGy)	Warna	Bobot ekstrak <i>n</i> -heksan (g)	Bobot ekstrak etil asetat (g)	Bobot ekstrak etanol (g)
100	Kontrol	Coklat tua	9,06	9,36	6,66
100	5	Coklat tua	9,19	9,27	7,96
100	7,5	Coklat tua	9,16	9,54	7,15
100	10	Coklat tua	9,19	9,30	8,24
100	15	Coklat tua	8,17	9,43	7,52

Tabel 2. Hasil uji sitotoksitas ekstrak rimpang temu putih terhadap pertumbuhan sel leukemia L1210.

Ekstrak	Pers. Regresi Linier	IC ₅₀ (µg/mL)
n-heksan	y = 1,13x + 4,10	6,23
etil asetat	y = 0,92x + 4,38	4,71
etanol	y = 1,07x + 4,32	4,37

inhibitor terhadap pertumbuhan sel leukemia L1210 ditampilkan pada Tabel 3. Aktivitas sitotoksik ekstrak etil asetat dari sampel yang diradiasi mengalami penurunan dibandingkan dengan kontrol, ditunjukkan dengan bertambahnya nilai IC₅₀. Hasil analisis data IC₅₀ ekstrak etil asetat dengan uji ANOVA Satu Arah menggunakan SPSS 17.0 pada taraf kepercayaan 95% ($\alpha = 0,05$) menunjukkan bahwa tidak ada perbedaan aktivitas sitotoksik yang bermakna antara kontrol dengan sampel yang diradiasi dosis 5 kGy, akan tetapi menunjukkan ada perbedaan aktivitas sitotoksik yang bermakna antara kontrol dengan sampel yang diradiasi dosis 7,5 kGy, 10 kGy, dan 15 kGy terhadap sel leukemia L1210.

Berdasarkan Tabel 1 ditunjukkan bahwa ekstrak etil asetat dari rimpang temu putih yang diradiasi memperlihatkan adanya penurunan aktivitas sitotoksik terhadap pertumbuhan sel leukemia L1210 tetapi penurunan tersebut tidak menghilangkan aktivitas

sitotoksiknya. Nilai IC₅₀ masih < 20 µg/mL, hal ini menunjukkan bahwa ekstrak masih aktif berpotensi sebagai antikanker⁽¹³⁾.

Fraksinasi Ekstrak Etil Asetat. Fraksinasi ekstrak etil asetat dari sampel yang diradiasi dengan dosis 5 kGy, 7,5 kGy, 10 kGy, dan 15 kGy serta kontrol dengan ulangan 1 dan ulangan 2 menggunakan kromatografi kolom masing-masing menghasilkan 7 fraksi dengan bobot masing-masing fraksi ditampilkan pada Tabel 4.

Sitotoksitas fraksi-fraksi. Untuk mengetahui fraksi yang paling aktif berpotensi sebagai antikanker, maka 7 fraksi dari kontrol ulangan 1 saja yang diuji sitotoksiknya. Grafik antara log konsentrasi (x) dengan probit (y) dari fraksi 1-7 dari sampel kontrol disajikan pada Gambar 1. Selanjutnya, dengan memasukkan nilai y = 5 (probit dari 50) maka nilai IC₅₀ dapat diperoleh (Tabel 5). Hasil uji sitotoksitas 7 fraksi hasil kromatografi kolom dari ekstrak etil asetat rimpang temu putih kontrol menunjukkan bahwa fraksi-fraksi tersebut aktif menghambat pertumbuhan sel leukemia L1210 dengan nilai IC₅₀ < 20 µg/mL. Diantara fraksi-fraksi tersebut, Fr 3 merupakan fraksi paling aktif dengan nilai IC₅₀ 1,43 µg/mL diikuti Fr 4 (1,71 µg/mL), Fr 1 (3,13 µg/mL), Fr 6 (3,61 µg/mL), Fr 5 (3,70 µg/mL), Fr 2 (3,77 µg/mL), dan Fr 7 (5,58 µg/mL). Berdasarkan hasil tersebut, maka

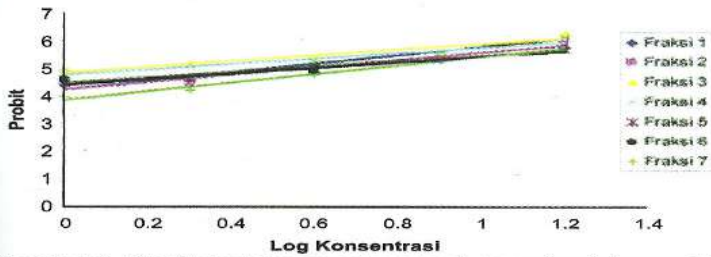
Tabel 3. Hasil uji sitotoksitas rata-rata ekstrak etil asetat dari rimpang temu putih terhadap pertumbuhan sel leukemia L1210.

No	Jenis Sampel		Rerata IC ₅₀		Penurunan Aktivitas
	Sampel Diradiasi (kGy)	Ekstrak Etil Asetat (µg/ml)	Ekstrak Etil Asetat (µg/ml)		
1	0	5,72 ^a			-
2	5	7,46 ^{ab}			1,3 x
3	7,5	8,86 ^{bc}			1,5 x
4	10	11,35 ^c			2,0 x
5	15	15,34 ^d			2,7 x

Tabel 4. Bobot fraksi hasil pemisahan ekstrak etil asetat dengan kromatografi kolom silika gel 60.

Fraksi	Eluen	Sampel Kontrol		Sampel 5 kGy		Sampel 7,5 kGy		Sampel 10 kGy		Sampel 15 kGy	
		Bobot (mg)	%	Bobot (mg)	%	Bobot (mg)	%	Bobot (mg)	%	Bobot (mg)	%
Fr 1	Hx:EA (1:0)	6	0,6	3	0,3	4	0,4	6	0,6	7	0,7
Fr 2	Hx:EA (7:1)	6	0,6	7	0,7	5	0,5	5	0,5	5	0,5
Fr 3	Hx:EA (5:1)	18	1,8	15	1,5	28	2,8	12	1,2	13	1,3
Fr 4	Hx:EA (1:1)	47	4,7	52	5,2	39	3,9	30	3,0	59	5,9
Fr 5	Hx:EA (0:1)	70	7,0	122	12,2	66	6,6	119	11,9	132	13,2
Fr 6	EA:MeOH (1:1)	70	7,0	115	11,5	243	24,3	95	9,5	48	4,8
Fr 7	EA:MeOH (0:1)	735	73,5	659	65,9	499	49,9	633	63,3	699	69,9
Jumlah bobot (mg)		952		973		884		900		963	

Fraksi 1-7 Dosis 0 kGy Ulangan 1



Gambar 1. Grafik hubungan antara log konsentrasi dan probit fraksi 1-7 ulangan 1.

Tabel 5. Hasil uji aktivitas sitotoksik fraksi 1-7 kontrol dari ekstrak etil asetat terhadap pertumbuhan sel leukemia L1210.

Fraksi	IC ₅₀ (µg/mL)
Fr 1	3,13
Fr 2	3,77
Fr 3	1,43
Fr 4	1,71
Fr 5	3,70
Fr 6	3,61
Fr 7	5,58

untuk mempelajari pengaruh iradiasi gamma terhadap aktivitas sitotoksik, maka Fr 3 merupakan fraksi paling aktif dan dipilih dari sampel yang diradiasi untuk diuji lebih lanjut dengan membandingkan nilai IC₅₀nya terhadap kontrol (sampel tidak diradiasi).

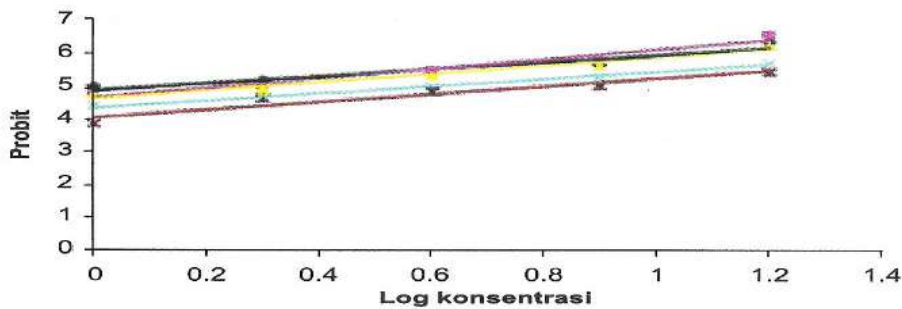
Grafik antara log konsentrasi (x) dengan probit (y) dari Fr 3 dari sampel kontrol dan yang diradiasi disajikan pada Gambar 2. Nilai IC₅₀ hasil uji aktivitas sitotoksik Fr 3 rata-rata dari ulangan 1 dan ulangan 2 dengan dosis iradiasi 0 kGy (kontrol), 5 kGy, 7,5 kGy, 10 kGy, dan 15 kGy diperlihatkan pada Tabel 6. Dari tabel tersebut terlihat bahwa aktivitas sitotoksik Fr 3 dari sampel yang diradiasi mengalami penurunan (nilai

Tabel 6. Hasil uji sitotoksitas fraksi 3 dari rimpang temu putih terhadap pertumbuhan sel leukemia L1210.

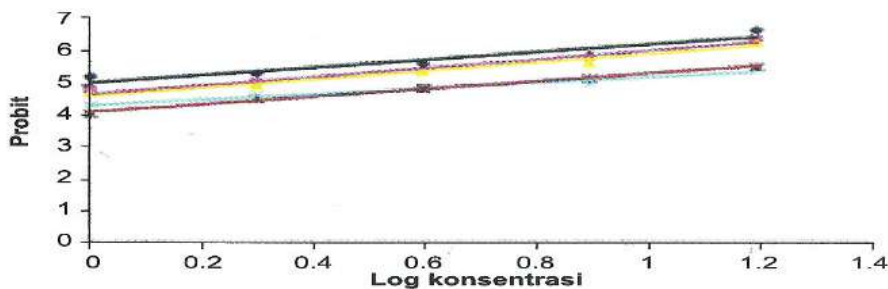
Dosis Iradiasi (kGy)	IC ₅₀ (µg/ml)	Penurunan aktivitas
0	1,22 ^a	-
5	1,88 ^a	1,5 kali
7,5	2,22 ^a	1,8 kali
10	5,51 ^b	4,5 kali
15	6,64 ^b	5,4 kali

Keterangan: ^aNilai IC₅₀ rata-rata dari 2 ulangan; ^bAngka dengan notasi huruf yang sama tidak berbeda nyata

Fraksi 3 Ulangan 1



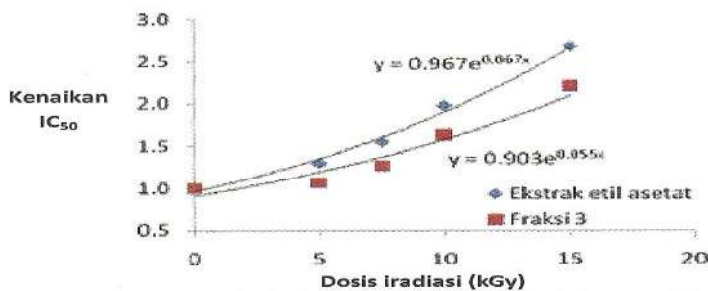
Fraksi 3 Ulangan 2



Gambar 2. Grafik hubungan antara log konsentrasi dan probit fraksi 3 dosis iradiasi 0 kGy (kontrol), 5 kGy, 7,5 kGy, 10 kGy, dan 15 kGy.

Tabel 7. Kenaikan IC_{50} ekstrak etil asetat dan fraksi 3.

Dosis iradiasi (kGy)	Kenaikan IC_{50} berdasarkan ekstrak etil asetat (kali)=Y	Kenaikan IC_{50} berdasarkan Fr 3 (kali)
0	1,00	1,00
5	1,30	1,07
7,5	1,55	1,27
10	1,98	1,63
15	2,68	2,20

Gambar 3. Pengaruh dosis iradiasi pada serbuk temu putih terhadap kenaikan nilai IC_{50} .

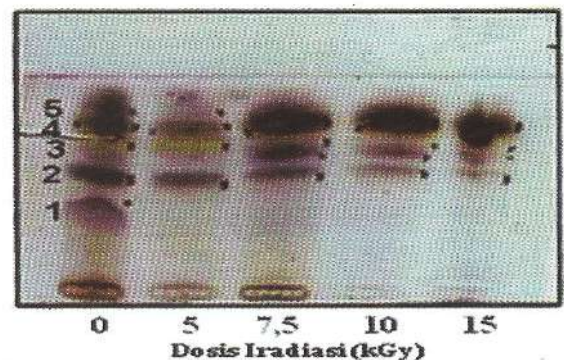
IC_{50} bertambah) dibandingkan dengan kontrol. Akan tetapi berdasarkan uji anova satu arah menggunakan SPSS 16.0 pada taraf kepercayaan 95% ($\alpha = 0,05$) menunjukkan bahwa tidak ada perbedaan aktivitas sitotoksik yang bermakna antara kontrol dengan dosis 5 kGy dan 7,5 kGy terhadap sel leukemia L1210, namun menunjukkan ada perbedaan aktivitas sitotoksik yang bermakna antara kontrol dengan dosis 10 kGy dan 15 kGy. Meskipun iradiasi serbuk temu putih dengan dosis > 10 kGy telah menyebabkan penurunan aktivitas sitotoksik bermakna terhadap pertumbuhan sel leukemia L1210, tetapi fraksi masih tetap dinyatakan aktif dengan nilai $IC_{50} < 20 \mu\text{g/mL}$ ⁽¹³⁾. Aktivitas sitotoksik menurun, sebanding dengan meningkatnya dosis radiasi, hal ini diduga adanya efek langsung radiasi pada materi berupa ionisasi, semakin besar dosis yang diberikan akan semakin besar daya ionisasinya sehingga akan menyebabkan terjadinya degradasi senyawa-senyawa aktif⁽⁹⁾.

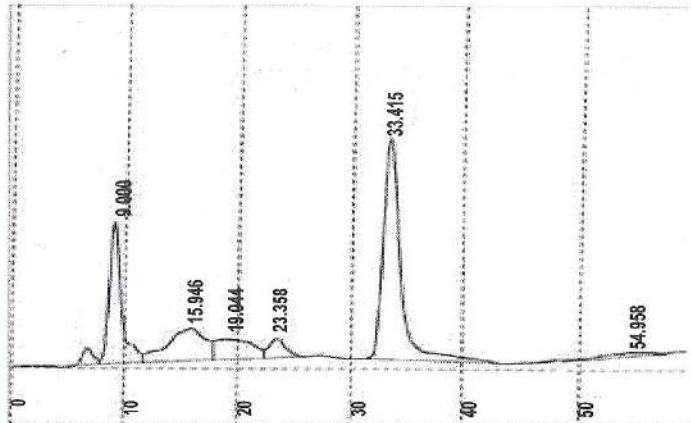
Iradiasi gamma pada serbuk temu putih dapat mengakibatkan penurunan sitotoksitas (kenaikan nilai IC_{50}) ekstrak maupun fraksi aktif (Tabel 7), dimana penurunan tersebut sesuai dengan persamaan $Y = 0,967 e^{0,067 X}$ dan $Y = 0,903 e^{0,055 X}$ berturut-turut untuk ekstrak etil asetat dan Fr 3 yang merupakan fraksi paling sitotoksik terhadap sel leukemia L1210 (Gambar 3). Berdasarkan persamaan tersebut terlihat bahwa semakin tinggi dosis iradiasi yang diberikan (X), maka serbuk temu putih yang diperlukan (Y) untuk membuat sediaan/formula dengan sitotoksitas yang sama semakin berlipat. Oleh karena itu, untuk

meminimalkan penurunan sitotoksitas akibat radiasi diusahakan penanganan sampel yang baik agar kontaminasi awal tidak tinggi sehingga dosis yang diperlukan dapat ditekan serendah mungkin.

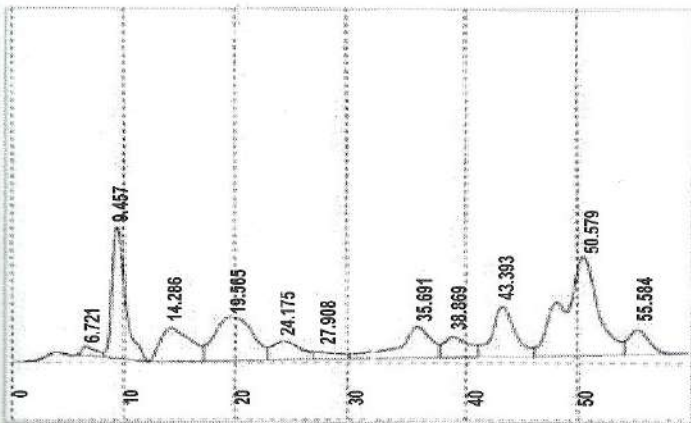
Kromatografi Lapis Tipis Fr 3. KLT Fr 3 dilakukan untuk mengetahui apakah komponen-komponen dalam Fr 3 mengalami perubahan akibat radiasi atau tidak. Hasil KLT Fr 3 dari sampel kontrol memiliki sedikitnya 5 bercak dengan bercak 4 yang merupakan komponen mayor (hRf bercak 4 sama dengan hRf bercak baku pembanding kurkumin), sedangkan pada fraksi 3 dari sampel yang diradiasi mulai dari dosis radiasi 5 kGy ada bercak yang hilang yaitu tampak pada bercak 1, ada bercak yang memudar seperti yang tampak pada bercak 2 dan bercak 4, serta ada bercak yang menebal seperti yang tampak pada bercak 3 dan bercak 5. Hal ini diduga karena adanya efek langsung radiasi gamma menyebabkan materi terionisasi dan mengalami perubahan baik secara fisika maupun secara kimia⁽⁹⁾.

Analisis senyawa aktif dengan KCKT. Hasil identifikasi fraksi 3 (fraksi paling aktif menghambat pertumbuhan sel leukemia L1210) dari sampel yang tidak diradiasi (kontrol) menunjukkan adanya 2 puncak mayor (waktu retensi puncak sama dengan waktu retensi baku pembanding kurkumin) pada waktu

Gambar 4. Kromatogram lapis tipis Fr 3. (Fase gerak: kloroform-metanol (20:1); Fase diam: silika gel GF₂₅₄; Deteksi: sinar uv 254 nm; Penampak bercak: serum sulfat 1% dalam H₂SO₄ 10%).



Gambar 5. Kromatogram KCKT fraksi 3 dari rimpang temu putih kontrol.

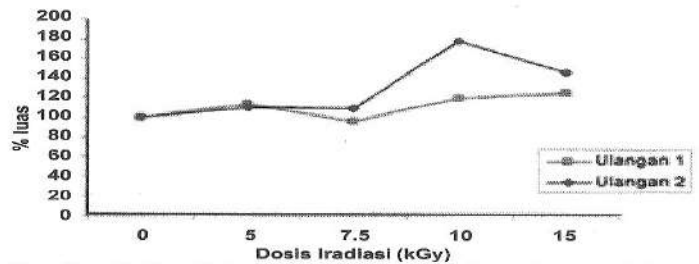


Gambar 6. Kromatogram KCKT fraksi 3 dari rimpang temu putih yang diradiasi 7,5 kGy. (Detektor: Shimadzu SPD-6A UV Spectrophotometer; Panjang gelombang: 210 nm; Eluen: MeOH-H₂O (7:3); Kecepatan alir: 0,4 ml/menit; Kolom: C-18).

retensi 9,0 menit dan 33,4 menit (Gambar 5). Pada dosis radiasi 5 kGy memberikan hasil kromatogram yang sama dengan kontrol tetapi ada peningkatan luas area pada puncak mayornya. Sedangkan pada dosis radiasi 7,5 kGy sampai 15 kGy memberikan hasil kromatogram yang berbeda dari kontrol dengan adanya pembentukan beberapa puncak baru dan yang paling tinggi pada waktu retensi 50,6 menit dan tetap

Tabel 8. Hasil luas area puncak mayor rata-rata kromatogram KCKT.

Dosis iradiasi (kGy)	Luas area puncak mayor rata-rata (%)
0	100
5	111,08
7,5	102,47
10	148,31
15	134,94



Gambar 7. Grafik hubungan antara dosis radiasi vs % luas area.

menunjukkan adanya peningkatan luas area pada puncak mayornya. Kromatogram KCKT fraksi 3 dari rimpang temu putih yang diradiasi 7,5 kGy dapat dilihat pada Gambar 6.

Luas area puncak mayor dalam % disajikan pada Tabel 8. Grafik antara dosis radiasi (x) dan % luas area puncak (y) disajikan pada Gambar 7.

Dari kromatogram yang didapatkan, dapat dilihat bahwa terjadi peningkatan luas area pada dosis radiasi dengan kontrol. Pada dosis 5 kGy terjadi peningkatan luas area sebesar 11,08%, pada dosis 7,5 kGy terjadi peningkatan luas area sebesar 2,47%, sedangkan pada dosis 10 kGy dan 15 kGy terjadi peningkatan luas area berturut-turut sebesar 48,31% dan 34,94%. Hasil analisis data persentase luas area fraksi 3 dengan uji anova satu arah menggunakan SPSS 17.0 pada taraf kepercayaan 95% ($\alpha = 0,05$) menunjukkan bahwa tidak ada perbedaan peningkatan luas area yang bermakna antara kontrol dengan dosis 5 kGy, 7,5 kGy, 10 kGy, dan 15 kGy (Tabel 13).

Berdasarkan data KCKT puncak mayor ada kecenderungan terjadi peningkatan luas area yang dimungkinkan karena pengaruh iradiasi tersebut pada materi. Materi yang terionisasi tersebut dapat menyebabkan adanya perubahan fisika dan kimia yang dapat menyebabkan adanya perubahan kadar suatu

Tabel 13. Hasil analisis statistik nilai % luas area fraksi 3 dengan variasi dosis iradiasi.

Dosis iradiasi	Kontrol (0 kGy)	5 kGy	7,5 kGy	10 kGy	15 kGy
% Luas area	100 ^a	111,08 ^a	102,47 ^a	148,31 ^a	134,94 ^a

Angka dengan notasi huruf yang sama tidak berbeda nyata.

senyawa⁽⁹⁾. Berdasarkan hasil uji aktivitas sitotoksik ekstrak etil asetat dan fraksi 3 menunjukkan bahwa dosis 7,5 kGy merupakan dosis radiasi maksimum untuk simplisia rimpang temu putih. Hal ini didukung pula oleh data kromatogram KLT dan KCKT.

SIMPULAN

Iradiasi gamma terhadap serbuk rimpang temu putih pada dosis 5 kGy menunjukkan sitotoksitas ekstrak etil asetat (nilai IC_{50} 7,46 $\mu\text{g/mL}$) yang tidak berbeda nyata terhadap kontrol, sedangkan dosis 7,5 kGy, 10 kGy dan 15 kGy menunjukkan penurunan sitotoksitas yang berbeda nyata terhadap kontrol.

Fraksi 3 sampel control merupakan fraksi paling sitotoksik terhadap pertumbuhan sel leukemia L1210 dengan nilai IC_{50} sebesar 1,43 $\mu\text{g/mL}$ dibandingkan enam fraksi lain. Aktivitas sitotoksik fraksi 3 dari sampel yang diradiasi 5 kGy dan 7,5 kGy tidak berbeda nyata terhadap kontrol, sedangkan dosis 10 kGy dan 15 kGy menunjukkan penurunan sitotoksitas yang berbeda nyata terhadap kontrol. Dosis 7,5 kGy masih aman digunakan untuk tujuan pengawetan rimpang temu putih, didukung oleh sitotoksitas Fr 3 yang masih aktif berpotensi sebagai antikanker, profil kromatogram KLT dan KCKT.

DAFTAR PUSTAKA

1. Soedibyo M. Alam sumber kesehatan, manfaat dan kegunaan. Jakarta: Balai Pustaka; 1998. 371-2.
2. Hariana HA. Tumbuhan obat dan khasiatnya seri I. Jakarta: Penebar Swadaya; 2007. v.
3. Windono T dan Parfiati N. *Curcuma zedoaria* (Bergius) Roscoe, kajian pustaka kandungan kimia dan aktivitas farmakologik. Prosiding Seminar Nasional Tumbuhan Obat Indonesia XXI, Fakultas Farmasi Universitas Surabaya, Surabaya, 2002: 247-55
4. Syu WJ *et al.* Cytotoxicity of curcuminoid and some novel compounds from *Curcuma zedoaria*. J of Natural Product. 1998. 61(12):1532-4.
5. Surh Y. Molecular mechanism of chemopreventive effects of selected dietary and medicinal phenolic substances. Br J Cancer. 1999. 80(1-2):110-6.
6. Murwanti R, Meiyanto E, Nurrochmad A, Kristina SA. Efek ekstrak etanol rimpang temu putih (*Curcuma zedoaria* Rosc.) terhadap pertumbuhan tumor paru fase post inisiasi pada mencit betina diinduksi benzo[a]piren. Majalah Farmasi Indonesia. 2004. 15(1):7-12.
7. Supardjan AM dan Da'i M. Hubungan struktur dan aktivitas sitotoksik turunan kurkumin terhadap sel Myeloma. Majalah Farmasi Indonesia. 2005. 16(2): 100-4.
8. Sayuti I, Wulandari S, dan Fatimah S. Bakteri enterik dalam minuman jamu gendong di kota Pekanbaru. Jurnal Biogenesis 2005. 2(1):16-9.
9. Leswara ND. Radiofarmasi. Depok: Penerbit UI; 2005. 117,119-20.
10. Brennand CP. Food irradiation. Diambil dari http://www.iaea.org/nafa/d5/public/food_irradiation.pdf. Diakses 30 Juni, 2008.
11. Abraham TW, Kalman TI, McIntee EJ, and Wagner CR. Synthesis and biological activity of aromatic amino acid phosphoramidates of 5-fluoro-2'-deoxyuridine and 1-b-arabinofuranosylcytosine: Evidence of phosphoramidase activity, J Med Chem. 1996. 39:4569-75.
12. Abdullah F. Cytotoxic and wild type P-53 promoting activities of selected Zingiberaceae species in colon cancer cell lines [Tesis]. Kuala Lumpur: Faculty of Science University of Malaya; 2009. 25-6.