

22.d/AIR 4/OT 02 02/01/2016

**TEKNOLOGI IRADIASI UNTUK MENJAGA KUALITAS  
PRODUK KESEHATAN DARI DAUN SIRSAK (ANNONA  
MURICATA L.) DALAM MENDUKUNG FARMAKOPE  
INDONESIA**

**Nikham, Ermin Katrin H., Hendig Winarno, Dien Puji Rahayu,  
Taty Erlinda Basjir, Susanto**



**PUSAT APLIKASI ISOTOP DAN RADIASI  
BADAN TENAGA NUKLIR NASIONAL  
2016**

# LAPORAN TEKNIS 2015


24.d/AIR 4/OT 02 02/01/2016

## TEKNOLOGI IRADIASI UNTUK MENJAGA KUALITAS PRODUK KESEHATAN DARI DAUN SIRSAK (ANNONA MURICATA L.) DALAM MENDUKUNG FARMAKOPE INDONESIA

Nikham, Ermin Katrin H., Hendig Winarno, Dien Puji Rahayu,  
Taty Erlinda Basjir, Susanto

Mengetahui/Menyetujui

Kepala Bidang Proses Radiasi



Dr. Darmawan  
NIP. 1910108 198803 1 002

Kepala Pusat Aplikasi Isotop dan Radiasi



Dr. Hendig Winarno, M.Sc  
NIP. 19600524 198801 1 001

## Abstrak

Saat ini animo masyarakat industri obat herbal dalam penggunaan teknik radiasi gamma untuk pasteurisasi dengan tujuan untuk membasmi cemaran mikroba patogen cukup besar dan hasilnya sangat efektif. Namun penelitian untuk mengetahui mutu, khasiat, keamanan belum banyak dilakukan. Tujuan penelitian ini untuk mempelajari pengaruh iradiasi gamma pada ekstrak daun sirsak, terhadap khasiat sebagai antikanker, antidiabetes imunomodulator, antiinflamasi, dan tidak toksik melalui uji toksisitas akut terhadap mencit, data hasil riset untuk menyokong BPOM, agar dipakai sebagai tambahan aturan dalam Farmakope Herbal Indonesia untuk teknologi pasteurisasi iradiasi oleh para pelaku produsen bahan herbal untuk memperpanjang masa simpannya dan khasiatnya tetap terjaga. Untuk mewujudkan tujuan tersebut, maka pada tahun 2015 telah dilakukan penelitian pengaruh dosis pasteurisasi radiasi pada dosis 5 dan 10 kGy terhadap simplisia daun sirsak (*Annona muricata* L.). Simplisia diestraksi dengan etanol 96 % untuk diuji sebagai antikanker, serta uji praklinis untuk mengetahui aktivitas antiinflamasi, antidiabetes, imunomodulator, dan toksisitas akut. Hasilnya menunjukkan bahwa rendemen ekstrak daun sirsak tanpa iradiasi 33,59 %, yang diiradiasi 5 kGy 21,91 %, dan 10 kGy 31 %. Hasil uji mikrobiologi terhadap simplisia yang diiradiasi 10 kGy dapat menurunkan angka kuman sebesar 5 desimal dan angka kapang sebesar 4 desimal. Simplisia tidak terdeteksi cemaran bakteri *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, dan *Staphylococcus aureus*. Hasil lainnya menunjukkan bahwa perlakuan iradiasi simplisia daun sirsak pada dosis 10 kGy tidak menurunkan khasiatnya sebagai antikanker, antiinflamasi, antidiabetes, imunomodulator, dan tidak toksik melalui uji toksisitas akut pada mencit.

**Kata kunci:** daun sirsak, *Annona muricata* L., iradiasi gamma, antikanker, antidiabetes, imunomodulator, antiinflamasi, toksisitas akut

## BAB I. LATAR BELAKANG

Sirsak (*Annona muricata* L.) merupakan tanaman yang berasal dari negara Amerika Selatan, yaitu Meksiko. Keberadaan tanaman tersebut diduga dibawa oleh orang Belanda semasa zaman penjajahan. Tanaman ini telah menyebar di seluruh pelosok Indonesia, walaupun masih ditanam di pekarangan rumah. Penyebaran tanaman sirsak di Indonesia dapat dijumpai di daerah Jawa Barat, terutama Rajamandala dan Bandung Selatan serta Jawa Tengah di daerah Karanganyar [1]. Sirsak merupakan salah satu tanaman yang memiliki banyak manfaat dan kegunaan. Seluruh bagian tanaman sirsak dapat digunakan sebagai obat tradisional, termasuk kulit kayu, daun, akar, buah, dan biji. Biji yang dihancurkan dapat digunakan sebagai vermifug dan antelmintik terhadap internal dan eksternal parasit dan cacing [2]. Tiap bagian dari tanaman ini memiliki banyak manfaat, salah satunya adalah daunnya. Dalam buah sirsak mengandung senyawa *acetogenins*, *annocatacin*, *annocatalin*, *annohexocin*, *annonacin*, *annomuricin*, *anomurine*, *anonol*, *caclourine*, *gentisic acid*, *gigantetronin*, *linoleic acid*, *muricapentocin* yang berfungsi untuk meningkatkan kekebalan tubuh. Daun sirsak secara empiris telah digunakan oleh sebagian masyarakat Indonesia sebagai obat tradisional, diantaranya sebagai obat sakit pinggang, mengurangi rasa nyeri, gatal-



gatal, reumatik, obat bisul, dan penurun panas. Daun sirsak bahkan dikatakan dapat mengobati penyakit kanker, beberapa pasien yang mengidap penyakit kanker sembuh dengan mengkonsumsi air rebusan daun sirsak. Khasiat lain dari daun sirsak adalah sebagai antispasmodik dan memberi efek menenangkan. Daun sirsak biasa dikonsumsi dalam bentuk teh. Teh daun sirsak digunakan sebagai obat radang selaput lendir hidung. Rebusan daun sirsak juga efektif digunakan untuk kutu rambut dan kutu busuk. Daun segar yang dihaluskan mampu membantu penyembuhan luka pada kulit. Penduduk di beberapa negara seperti Brazil dan Peru diketahui menggunakan daun sirsak sebagai obat diabetes [2].

Obat tradisional saat ini telah diterima secara luas di berbagai negara berkembang dan negara maju. Badan kesehatan internasional (WHO) telah merekomendasikan penggunaan obat tradisional termasuk obat herbal dalam pemeliharaan kesehatan masyarakat, pencegahan dan pengobatan penyakit terutama untuk penyakit kronis, penyakit degeneratif dan kanker. Hal ini menunjukkan dukungan terhadap pengobatan kembali ke alam atau dikenal dengan "Back to Nature".

Meningkatnya kebutuhan obat tradisional di Indonesia menyebabkan industri jamu, farmasi dan kosmetik bahan alam meningkatkan produksi jamu, farmasi dan kosmetik menggunakan bahan baku berbagai tanaman berkhasiat obat. Kebutuhan bahan baku tanaman obat meningkat pesat, berbagai industri baik kecil maupun industri besar memerlukan pasokan bahan baku tanaman obat dalam jumlah besar yang diperoleh dari berbagai petani binaan. Setelah proses pasca panen, bahan baku obat atau simplisia disimpan menunggu untuk proses lebih lanjut. Pada tahapan ini, penyimpanan simplisia dalam jumlah banyak dengan iklim Indonesia subtropis dan kelembaban yang cukup tinggi menimbulkan suatu permasalahan yaitu memicu pertumbuhan bakteri, jamur dan kapang pada bahan baku. Kontaminasi pada bahan baku menyebabkan kerusakan senyawa kimia yang terkandung didalamnya dan penurunan khasiat. Hal ini menyebabkan penurunan kualitas dari produk jadi obat tradisional. Untuk mempertahankan kualitas sediaan obat tradisional perlu dilakukan penanganan yang baik mulai dari bahan baku yang dipergunakan karena jika digunakan bahan baku yang berkualitas baik maka akan menghasilkan produk jadi yang berkualitas juga. Permasalahan akibat kontaminasi mikroba, jamur dan kapang dapat diatasi dengan penggunaan teknik pasteurisasi gamma karena radiasi gamma berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan oleh PAIR – BATAN mampu menurunkan angka bakteri, jamur dan kapang pada berbagai simplisia rimpang. Penggunaan teknologi radiasi dalam pengembangan obat tradisional di Indonesia saat diminati karena tidak meninggalkan residu pada bahan, tidak



menyebabkan kenaikan suhu sehingga baik untuk simplisia yang mengandung banyak minyak atsiri dan bahan yang tidak tahan terhadap pemanasan.

Terkait dengan penggunaan radiasi yang sangat menguntungkan dari segi pembasmian cemaran mikroba maka perlu dilakukan penelitian untuk mengetahui pengaruh iradiasi terhadap khasiat dan aktivitas yang dikandung dalam simplisia sehingga permasalahan penyimpanan bahan baku dapat diatasi dan menghasilkan produk jadi obat tradisional yang bermutu berkualitas baik, dan aman. Selanjutnya dokumen hasil penelitian akan dipakai untuk menyokong BPOM KemneKes RI, agar dicantumkan pada Farmakope Herbal Indonesia tentang aplikasi teknologi pasteurisasi iradiasi bahan baku dan produk obat herbal tradisional.

Menurut Survei Sosial Ekonomi Nasional pada tahun 2004 penduduk Indonesia yang melakukan pengobatan sendiri meningkat menjadi 72,44 % dalam hal ini 32,87 % menggunakan obat tradisional. Masa simpan yang pendek dapat menimbulkan kerugian akibat kerusakan dalam masa penyimpanan dan transportasi, disebabkan kontaminasi mikroba. Di negara berkembang, proses pengeringan terhadap tanaman obat masih dilakukan secara konvensional (*batch dryers*), sehingga menghasilkan produk berkualitas rendah dan membutuhkan energi yang tinggi. Teknologi pengawetan menggunakan iradiasi sinar gamma merupakan teknologi terkini yang diminati karena memiliki berbagai keunggulan dibandingkan teknologi konvensional. Beberapa keunggulan tersebut misalnya proses iradiasi yang efektif dan efisien, tidak menimbulkan residu bahan kimia pada produk yang diiradiasi, dan tidak mencemari lingkungan. Pada ginger yang diiradiasi gamma 0,05 kGy setelah penyimpanan 1 bulan tidak menunjukkan penurunan kandungan senyawa mudah menguap pada sampel yang diiradiasi, namun setelah 5 bulan terjadi perbedaan yang bermakna antara ginger yang diiradiasi dan yang tidak diiradiasi. Iradiasi gamma dosis 10 kGy simplisia sambiloto yang disimpan selama 1 tahun tetap bermutu baik, karena dosis 10 kGy dapat menghilangkan kontaminan *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*.

Tujuan penelitian ini untuk mempelajari pengaruh iradiasi gamma pada ekstrak daun sirsak, apakah pasteurisasi iradiasi gamma mempengaruhi khasiat sebagai antidiabetes dan imunomodulator, antiinflamasi, toksisitas akut terhadap mencit, selanjutnya data hasil riset untuk menyokong BPOM agar dipakai sebagai tambahan aturan dalam Farmakope Herbal Indonesia untuk teknologi pasteurisasi iradiasi oleh para pelaku produsen bahan herbal untuk memperpanjang masa simpannya dan khasiatnya tetap terjaga. Hipotesa penelitian ini adalah ekstrak daun sirsak yang diiradiasi gamma pada dosis 10 kGy tidak menurunkan khasiatnya sebagai antikanker, antiinflamasi, antidiabetes, imunomodulator dan tidak toksik melalui uji toksisitas akut pada tikus, sama seperti ekstrak daun sirsak yang tidak diiradiasi.



## BAB II : METODOLOGI

### 1. Metode Pembuatan Simplisia Daun Sirsak

Sampel daun sirsak yang digunakan sebagai bahan uji adalah dipanen dari perkebunan rakyat di daerah Sukabumi. Pemanenan daun sirsak dilakukan dengan mengambil semua daun sirsak. Pembuatan simplisia daun sirsak dilakukan melalui beberapa tahapan, meliputi: penyortiran, dan pengeringan. Bila kadar air telah mencapai sekitar 15 %, yaitu ketika simplisia bisa dipatahkan, pengeringan telah dianggap cukup. Kemudian simplisia kering dikemas dalam plastik polietilen tebal 0,1 mm dan diiradiasi dengan menggunakan sinar gamma pada dosis 5 dan 10 kGy. Simplisia diekstraksi dengan cara dimaserasi dalam etanol 96 %, diperkolasi dan dievaporasi untuk mendapatkan ekstrak kental. Ekstrak tersebut dipakai sebagai sampel untuk diuji khasiatnya sebagai antikanker, antiinflamasi, antidiabetes, imunomodulator dan toksisitas akut terhadap mencit.

### 2. Metode penentuan penapisan fitokimia simplisia daun sirsak.

**a. Alkaloid.** Ditimbang 500 mg serbuk simplisia daun sirsak, 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 daun sirsak positif.

**b. Flavonoid.** Ditimbang sebanyak 1 gram serbuk daun sirsak 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 daun sirsak 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 temu mangga menunjukkan hasil positif mengandung saponin.

**d. Tanin.** Satu gram serbuk daun sirsak 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 temu mangga menunjukkan adanya kandungan tannin.

**e. Pemeriksaan steroid/triterpenoid.** Sebanyak 5 gram serbuk daun sirsak 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 fenol.** Dua gram sampel tersebut, ditambahkan dengan 25 ml etanol, kemudian dipanaskan selama 25 menit diatas waterbat. Filtrat panas-panas disaring lalu diuapkan di *waterbath* sampai kering. Sisanya dititrasi dengan menambahkan kloroform. Bagian yang tidak larut dalam kloroform ditambahkan air. Terdapat 2 lapisan, yaitu lapisan air dan lapisan kloroform, lalu dipisahkan.

**f. Pemeriksaan Glikosida.** Tiga gram sampel tersebut 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 metanol. Uapkan 0,1 ml larutan sampel 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).

### **3. Metode pengujian cemaran mikroba pada simplisia tanpa dan yang telah diiradiasi.**

Penetapan Angka Lempeng Total dan Penetapan Angka Kapang dan Khamir dilakukan sesuai dengan prosedur dalam SNI. Ditimbang serbuk daun sirsak 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.

### **4. Metode pengujian antidiabetes ekstrak etanol simplisia daun sirsak pada tikus**



Tikus dikarantina selama satu minggu dengan tetap diberi minum. Setelah itu semua tikus diukur kadar glukosa darah awalnya, lalu diinduksi aloksan 100 mg/kgBB secara *in vivo* kecuali untuk kelompok kontrol normal. Pada hari ketiga, setelah dipuasakan selama 10 jam, tikus diukur kadar glukosa darah, sebelum perlakuan. Kemudian tikus dikelompokkan menjadi 6 kelompok (untuk masing-masing dosis radiasi) dan kemudian diberi perlakuan selama empat hari berturut-turut sebagai berikut; Kelompok kontrol normal : Pulvis Gummi Arabicum (PGA) 2 % tanpa induksi aloksan, Kelompok kontrol negatif : PGA 2 %, Kelompok kontrol positif : Klorpropamid 100 mg/kgBB + PGA 2 %, Kelompok uji I : Ekstrak 250 mg/kgBB + PGA 2 %, Kelompok uji II : Ekstrak 500 mg/kgBB + PGA 2 %, dan Kelompok uji III : Ekstrak 1.000 mg/kgBB + PGA 2 %

Pengambilan darah masing-masing kelompok dilakukan pada hari ke dua, ke empat dan ke lima setelah perlakuan. Sampel darah disentrifugasi dengan kecepatan 4.000 rpm selama 10 menit, kemudian diambil serumnya. Serum darah diukur secara fotometrik pada  $\lambda$  546 nm dengan metode GOD-PAK.

##### **5. Metode pengujian antiinflamasi ekstrak etanol simplisia daun sirsak pada tikus**

Rancangan penelitian menggunakan rancangan acak lengkap pola searah. Tikus jantan galur Wistar dibagi menjadi 11 kelompok masing-masing 5 ekor.

Kelompok I : diberikan larutan CMC Na 0,5 % dosis 10,0 ml/kg BB peroral satu jam sebelum injeksi karagenin 1 % (kontrol negatif). Kelompok II-IV: diberikan ekstrak etanol daun sirsak (radiasi 0, 5, dan 10 kGy) dosis 50 mg/kg BB peroral satu jam sebelum injeksi karagenin 1 %. Kelompok V-VII : diberikan ekstrak etanol daun sirsak (radiasi 0, 5, dan 10 kGy) dosis 100 mg/kg BB peroral satu jam sebelum injeksi karagenin 1 %. Kelompok VIII-X : diberikan ekstrak etanol daun sirsak (radiasi 0, 5, dan 10 kGy) dosis 200 mg/kg BB peroral satu jam sebelum injeksi karagenin 1 %. Kelompok XI : diberikan natrium diklofenak dosis 13,5 mg/kg BB (setara dosis terapi pada manusia) peroral satu jam sebelum injeksi karagenin 1 %.

Karagenin 1 % diinjeksi 0,1 ml subplantar pada telapak kaki tikus. Volume kaki tikus diukur menggunakan pletismometer, yaitu sekali sebelum pemberian karagenin dan pada waktu 0; 0.5; 1.0; 1.5; 2.0; 2.5; 3.0; 3.5; 4.0; 4.5; 5.0; 5.5 dan 6,0 jam setelah pemberian karagenin. Berdasarkan data volume kaki tikus dihitung volume udem akibat pemberian karagenin menggunakan persamaan berikut :

$$Vu = Vo - Vt$$

Dimana Vu adalah volume udem pada waktu t setelah pemberian karagenin, Vo adalah volume kaki tikus awal sebelum penyuntikan karagenin, dan Vt adalah volume kaki tikus pada waktu t



setelah penyuntikan karagenin. Setelah perhitungan volume udem dilakukan untuk setiap kelompok, lalu dibuat kurva hubungan antara volume udem terhadap waktu pengukuran. Dari kurva tersebut, dihitung harga  $AUC_{0-4}$  (luas dibawah kurva volume udem terhadap waktu) menggunakan metode trapesium, yaitu dengan rumus umum sebagai berikut.

$$AUC_{t_1-t_2} = \frac{V_1 + V_2}{2} x (t_2 - t_1)$$

Daya antiinflamasi dihitung berdasarkan % penurunan volume udem, yang dicerminkan oleh penurunan harga  $AUC_{0-6,5}$  setelah diberikan senyawa uji (Ekstrak etanol daun sirsak atau Natrium diklofenak) terhadap  $AUC_{0-6,5}$  kontrol negatif (pelarut), yaitu dengan persamaan sebagai berikut :

$$\text{Daya Antiinflamasi } (\%) = \frac{AUC_K - AUC_P}{AUC_K} x 100\%$$

## 6. Metode pengujian imunomodulator ekstrak daun sirsak pada mencit

### 6.1. Hewan uji dan kelompok uji

Empat puluh ekor mencit jantan Swiss (umur 6-8 minggu, bobot 20-30 g) diperoleh dari Unit Pengembangan Hewan Percobaan LPPT UGM dan digunakan pada penelitian ini. Hewan uji ditempatkan dalam kandang pada temperatur (20-25°C) dan kelembaban (60-80%) dalam ruangan terkontrol. Siklus gelap-terang adalah 12/12 jam dan diberi pakan dan minum *ad libitum*. Dua puluh ekor hewan uji dibagi menjadi 5 kelompok dengan 5 ekor tikus tiap kelompok dengan pembagian sebagai berikut: Kel kontrol CMC Na 0,5% (0 dan 10 kGy), kel ekstrak etanol daun sirsak (0 dan 10 kGy) dosis (50 mg/kg BB), kel ekstrak etanol daun sirsak (0 dan 10 kGy) dosis (100 mg/kg BB), kel ekstrak etanol daun sirsak (0 dan 10 kGy) dosis (200 mg/kg BB), Sediaan uji ekstrak etanolik daun sirsak diberikan secara oral diberikan sekali sehari selama 14 hari.

### 6.2. Proliferasi Limfosit

Pada hari ke-15, hewan uji dikorbankan dan dilakukan pembedahan untuk mengambil organ limpa. Limpa dipotong-potong dan dibuat suspensi sel tunggal dan disentrifuge (1200 rpm, 4°C, 10 menit). Pellet yang didapat disuspensikan dalam 2 ml *Tris Buffered Ammonium Chloride* (TBAH) untuk melisiskan eritrosit. Sel dicampur menggunakan pipet dan didiamkan pada temperatur ruangan selama 2 menit. Selanjutnya ditambahkan 1 ml FBS pada dasar tabung menggunakan pipet. Suspensi kemudian disentrifuge (1200 rpm, 4°C, 5 menit), dan supernatan dibuang. Pellet dicuci dengan RPMI 2 x dengan cara dipipet berulang-ulang dan disentrifuge (1200 rpm, 4°C, 5 menit). Supernatan dibuang dan sel diresuspensikan dengan medium komplit. Sel dihitung

menggunakan heositometer dan ditentukan viabilitasnya dengan trypan blue. Splenosit dikultur pada mikrokultur 24 sumuran dengan kepadatan  $10^6$  sel/ml dalam medium komplit kemudian diinkubasi dalam inkubator CO<sub>2</sub> 5%, 37°C selama 24, 48, dan 72 jam. Aktivitas proliferasi supernatan kultur splenosit diukur dengan MTT *test assay*. Kultur sel ditambah MTT test kemudian diinkubasi selama 4 jam dan selanjutnya ditambahkan stopper dan dibaca pada Elisa reader pada  $\lambda$  550 nm.

### 6.3. Fagositosis Makrofag

Pada hari ke-15, hewan uji dikorbankan dengan anestesi ketamine (60 mg/kg BB). Mencit diletakkan dalam posisi telentang, kulit bagian perut dibuka dan dibersihkan dari selubung peritoneum dengan alkohol 70% (v/v) dan disuntikkan  $\pm$  10 ml RPMI (Sigma®) dingin ke rongga peritoneum. Kemudian dibiarkan selama  $\pm$  3 menit sambil digoyang-goyang secara perlahan (agar makrofag yang menempel di rongga peritoneum dan di sekitar usus dapat terlepas dan tersuspensi dalam medium RPMI). Cairan peritoneal dikeluarkan dari rongga peritoneum dengan dilakukan penekanan organ dalam dengan 2 jari, kemudian cairan diaspirasi dengan tabung injeksi (Terumo®) (dipilih pada bagian yang tidak berlemak dan jauh dari usus). Aspirat dipusingkan pada 1.200 rpm, 40°C selama 10 menit. Supernatan yang terbentuk dibuang dan kemudian ditambahkan 3 ml "medium RPMI komplit" (mengandung FBS (Gibco®)).

Kemampuan fagositosis non spesifik dilakukan *in vitro* menurut Leijh dkk. [3] dengan menggunakan latex beads diameter 3  $\mu$ m (Sigma Chem. Co.). Lateks diresuspensikan dalam PBS (Sigma®) sehingga didapat konsentrasi  $2,5 \times 10^7$ /ml. Makrofag peritoneum yang dikultur sehari sebelumnya dicuci 2x dengan RPMI, tambahkan suspensi lateks 200  $\mu$ l/sumuran dan diinkubasikan selama dalam inkubator CO<sub>2</sub> 5%, 37°C selama 60 menit. Sel kemudian dicuci dengan PBS 3x untuk menghilangkan lateks yang tidak difagositosis. Setelah itu keringkan pada suhu ruangan dan difiksasi dengan metanol selama 30 detik. Selanjutnya metanol dibuang dan coverslips dibiarkan sampai kering. Setelah kering, coverslips dipulas dengan Giemsa (Merck®) 20% (v/v) selama 30 menit. Dicuci dengan air suling, diangkat dari sumuran kultur dan dikeringkan pada suhu kamar. Seratus sel makrofag diamati dan dihitung jumlah makrofag yang memfagositosis partikel lateks dan jumlah lateks yang difagositosis oleh makrofag. Pengamatan makrofag dilakukan dengan menggunakan mikroskop cahaya (Olympus®) dengan perbesaran 400x [4].

## 7. Metode uji antikanker daun sirsak

Simplisia daun sirsak dimaserasi berturut-turut dengan pelarut *n*-heksan, etil asetat dan etanol. Filtrat yang diperoleh dipekatkan untuk mendapatkan ekstrak kasar. Ekstrak *n*-heksan, etil



asetat, dan etanol dari daun sirsak dipersiapkan untuk uji antikanker. Skrining awal ketiga ekstrak diuji secara *in vitro* dengan sel MCF, ekstrak yang paling aktif menghambat pertumbuhan sel MCF dilanjutkan untuk uji antiproliferasi terhadap sel kanker lestari.

Uji aktivitas sitotoksik pada sel kanker manusia secara *in vitro* dilakukan terhadap ekstrak dari simplisia yang diiradiasi maupun yang tidak. Ekstrak yang diuji yaitu ekstrak yang memberikan nilai IC<sub>50</sub> terbaik pada pengujian terhadap sel MCF. Masing-masing sampel dibuat dengan 6 macam variasi konsentrasi, yaitu 0 (kontrol), 5, 10, 20, 40 dan 80 µg/ml, dengan ulangan 3 kali. Sebagai kontrol positif digunakan doksorubisin dengan konsentrasi 6 µg/ml. Masing-masing konsentrasi ditempatkan dalam Multiwell Plate Tissue's Culture 24 sumuran yang berisi 1 ml suspensi sel (mengandung 2 x 10<sup>5</sup> sel) dalam medium, kemudian diinkubasi dalam inkubator CO<sub>2</sub> 5 % pada suhu 37 °C selama 72 jam. Suspensi sel dalam setiap sumuran dipipet 90 µl dan dimasukkan ke dalam *serocluster plate* (96 sumuran) dan ditambah 10 µl biru tripan, lalu dihomogenkan kembali. Sebanyak 10 µl larutan dialirkan ke dalam *haemocytometer* dan dilakukan perhitungan jumlah sel yang hidup dan yang mati di bawah mikroskop. Aktivitas antiproliferasi merupakan kemampuan sampel uji dalam menghambat pertumbuhan sel dinyatakan dalam presentase (%) penghambatan berdasarkan rumus :

$$\% \text{ penghambatan} = \frac{[\text{rerata sel dlm kontrol}] - [\text{rerata sel dlm sampel uji}]}{[\text{rerata sel dalam kontrol}]}$$

Perhitungan nilai IC<sub>50</sub> (*inhibitory concentration fifty*), yaitu konsentrasi zat uji yang dapat menghambat pertumbuhan sel sebesar 50 %, dihitung dari kurva regresi linier antara log konsentrasi zat uji dengan nilai probit aktivitas penghambatan

#### **8. Metode uji toksisitas daun sirsak pada mencit.**

Mencit galur Swiss Webster sebagai sampel uji terlebih dahulu diaklimatisasi selama 1 minggu dan hanya mencit sehat yang digunakan dalam percobaan. Ekstrak uji yang digunakan dengan 5 tingkat dosis yaitu 625 mg/kg berat badan (bb) (D1); 1.250 mg/kg bb (D2); 2.500 mg/kg bb (D3); 5.000 mg/kg bb (D4) dan 10.000 mg/kg bb (D5) yang terlebih dahulu disuspensikan dalam Na-CMC 0,5 % kemudian diberikan secara oral dalam dosis tunggal 1 ml per 20 g mencit, satu dosis per kelompok. Tiap kelompok terdiri dari 10 tikus jantan dan 10 mencit betina yang dikelompokkan secara acak. Kelompok kontrol (K) hanya diberi larutan pembawa yaitu Na CMC 0,5 %. Pengamatan terhadap efek-efek yang muncul dilakukan segera setelah pemberian sediaan uji selama 2 mencit pada tiap jam dalam periode 4 jam pertama. Parameter yang diamati meliputi

efek terhadap sistem syaraf pusat, sistem saraf otonom, refleks, ritme pernapasan, perubahan dalam ekskresi, kondisi kulit dan mukosa, postur tubuh, kecepatan denyut jantung dan beberapa respon lainnya yang umum diamati pada uji toksisitas akut. Perubahan bobot badan dan kematian tikus dipantau terus setiap hari sampai 14 hari setelah pemberian sediaan uji. Apabila mencit yang mati selama pengamatan, segera dibedah untuk menentukan sebab kematian. Pada hari ke 14, semua mencit dibunuh kemudian organ-organnya ditimbang dan dihitung terhadap bobot badan mencit. Organ-organ yang diambil untuk pengamatan pada mencit jantan adalah hati, limpa, paru-paru, ginjal, jantung, vessikal seminalis dan testis sedangkan pada mencit betina organ yang diamati adalah hati, limpa, paru-paru, ginjal, jantung, ovarium dan uterus. Selain itu pengamatan yang dilakukan adalah profil perubahan bobot badan mencit. Kebermaknaan data yang diperoleh diolah secara statistik menggunakan uji-t.

### BAB III : HASIL DAN PEMBAHASAN

#### 1. Hasil penentuan rendemen simplisia daun sirsak

Hasil penentuan rendemen ekstrak dari simplisia daun sirsak tanpa dan yang diiradiasi pada dosis 5 dan 10 kGy, menunjukkan bahwa ada perbedaan yang nyata pada dosis 5 kGy dibanding tanpa iradiasi (Tabel 1).

Tabel 1. Rendemen ekstrak daun sirsak tanpa dan diiradiasi pada dosis 5 dan 10 kGy

No.	Dosis iradiasi (kGy)	Berat serbuk (gr)	Berat ekstrak (gr)	Rendemen (%)
1	0	2.000	671,8	33,59
2	5	1.000	219,1	21,91
3	10	1.500	465	31

#### 2. Hasil penentuan persyaratan dan penepisan fitokimia simplisia daun sirsak

Penentuan persyaratan dan fitokimia simplisia daun sirsak tanpa dan iradiasi. Hasil percobaan kandungan fitokimia dan pemeriksaan persyaratan simplisia daun sirsak iradiasi disajikan pada Tabel 2 dan 3. Pada Tabel 2, menunjukkan bahwa simplisia yang dipasteurisasi pada dosis 5 dan 10 kGy, cenderung menurunkan kadar persyaratannya. Pada Tabel 3 ini terlihat bahwa simplisia temu mangga baik yang tanpa diiradiasi maupun yang diiradiasi mengandung senyawa kimia seperti alkaloid, saponin, fenolik, flavonoid, triterfenoid dan steroid. Dari data tersebut nampak bahwa perlakuan pasteurisasi iradiasi pada dosis 10 kGy tidak menunjukkan penurunan kandungan fitokimianya.



Tabel 2. Hasil uji persyaratan simplisia daun sirsak iradiasi

No.	Uraian pengujian (%)	Simplisia daun sirsak iradiasi (kGy)		
		0	5	10
1.	Kadar air	6,80	6,55	6,80
2.	Kadar abu	10,03	9,57	12,74
3.	Kadar abu tak larut asam	1,69	1,44	3,82
4.	Kadar sari dalam air	20,65	19,82	15,52
5.	Kadar sari dalam alkohol	12,04	11,30	10,68

Tabel 3. Hasil uji penepisan fitokimia simplisia daun sirsak iradiasi

No.	Uraian pengujian	Simplisia daun sirsak iradiasi (kGy)		
		0	5	10
1.	Saponin	+	+	+
2.	Tanin	-	-	-
3.	Alkaloid	+	+	+
4.	Fenolik	+	+	+
5.	Flavonoid	-	-	-
6.	Triterpenoid	+	+	+
7.	Steroid	+	+	+
8.	Glikosida	+	+	+

Senyawa tanin nampak kandungannya sedikit 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 daun sirsak. Demikian juga hasil pemeriksaan simplisia tanpa dan yang diiradiasi tidak menunjukkan perbedaan berarti artinya perlakuan iradiasi tidak mempengaruhinya. Dengan demikian simplisia daun sirsak dapat dipakai sebagai salah satu bahan baku dalam produksi kosmetik, jamu dan obat tradisional.

### 3. Hasil pengujian cemaran mikroba pada simplisia tanpa dan yang telah diiradiasi.

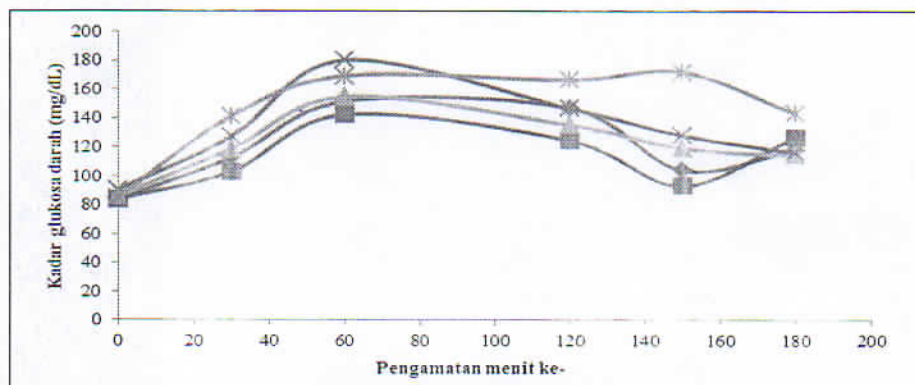
Tabel 4. Hasil uji mikrobiologi simplisia daun sirsak tanpa dan diiradiasi pada dosis 5 dan 10 kGy

No.	Uraian Uji	Media uji	Dosis iradiasi		
			0 kGy	5 kGy	10 kGy
1	TPC (angka kuman)	TSA	$1.29 \times 10^8$	$1.78 \times 10^4$	$2.25 \times 10^3$
2	TYMC (angka kapang)	SDA	$6.44 \times 10^4$	$7.44 \times 10^2$	<1
3	Coliform	McConkey	$2.67 \times 10^5$	<1	<1
4	<i>Escherichia coli</i>	EMB	<1	<1	<1
5	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Cetrimide	<1	<1	<1
8	<i>Staphylococcus aureus</i>	MSA	<1	<1	<1

Hasil uji mikrobiologi terhadap simplisia yang diiradiasi 10 kGy dapat menurunkan angka kuman sebesar 5 desimal dan angka kapang sebesar 4 desimal. Simplisia daun sirsak tidak terdeteksi cemaran bakteri *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, dan *Staphylococcus aureus* (Tabel 4).

#### 4. Hasil pengujian efek hipoglikemia ekstrak daun sirsak pada tikus wistar jantan dengan metode tes toleransi glukosa (GTT)

Hasil pengukuran kadar glukosa darah ekstrak daun sirsak pada tikus Wistar jantan menggunakan tes toleransi glukosa dapat dilihat pada Gambar 1. Hasil pengujian pendahuluan menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun sirsak dosis 25 mg/kg bb merupakan dosis yang mempunyai efek hipoglikemik jika dibandingkan kelompok dosis uji yang lain. Oleh karena itu, maka pada pengujian efek ekstrak etanol daun sirsak yang diradiasi, dosis 25 mg/kg bb akan dijadikan acuan sebagai dosis uji.



Gambar 1. Pengaruh pemberian ekstrak daun sirsak yang diradiasi 0 kGy terhadap kadar glukosa darah tikus

Keterangan:

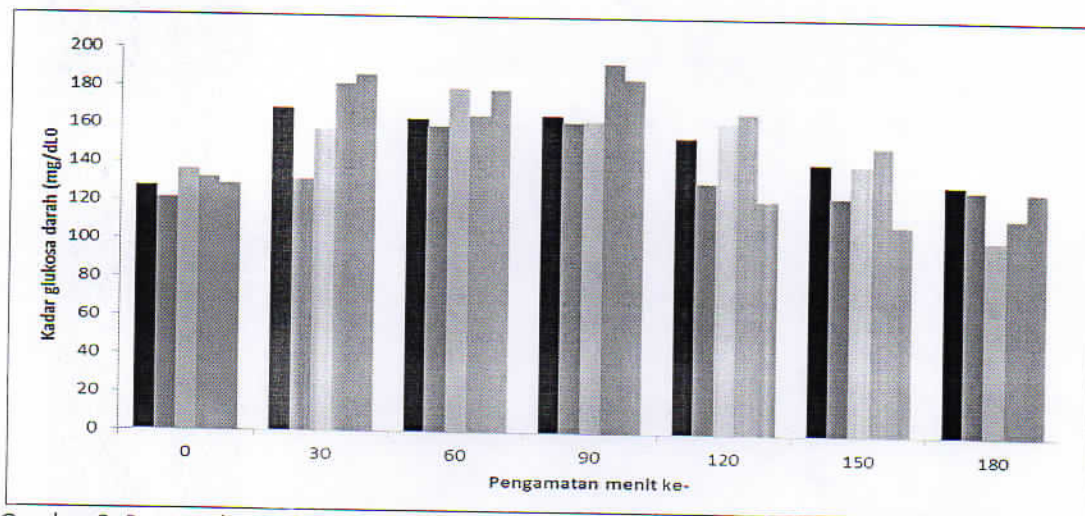
- = kontrol
- = pembanding klorpropamid 22,5 mg/kg bb
- ▲— = ekstrak daun sirsak 0 kgray dosis 25 mg/kg bb
- = ekstrak daun sirsak 0 kgray dosis 50 mg/kg bb
- ◇— = ekstrak daun sirsak 0 kgray dosis 100 mg/kg bb

Hasil pengukuran kadar glukosa darah ekstrak daun sirsak yang diradiasi 0, 5, dan 10 kGy pada tikus Wistar jantan menggunakan tes toleransi glukosa dapat dilihat pada Gambar 2. Hasil penentuan kadar glukosa darah, menunjukkan bahwa pada menit ke-30 semua hewan uji menunjukkan kenaikan kadar glukosa darah dibanding menit ke - 0. Pada pengujian menunjukkan bahwa penurunan kadar glukosa darah ekstrak etanol daun sirsak yang diradiasi 0 dan 10 kGy mempunyai efek hipoglikemi lebih baik jika dibandingkan ekstrak etanol daun sirsak yang diradiasi 5 kGy. Hal ini ditunjukkan pada Gambar 3, dimana jumlah selisih kadar glukosa darah kelompok ekstrak etanol daun sirsak yang diradiasi 0 kGy sebesar 88,54 %, sedangkan ekstrak etanol daun sirsak yang diradiasi 5 kGy sebesar 180,22 %, dan ekstrak etanol daun sirsak dengan radiasi 10 kGy sebesar 138,22 %, dan pada kelompok pembanding sebesar 109,18 %.

Hasil uji menunjukkan bahwa efek hipoglikemik terjadi pada kelompok pembanding klorpropamid, kelompok ekstrak daun sirsak tanpa radiasi dan dengan radiasi 10 kGy. Kadar glukosa relatif dari setiap kelompok perlakuan dianalisis secara statistik menggunakan metode ANOVA dan Uji-t. Hasil



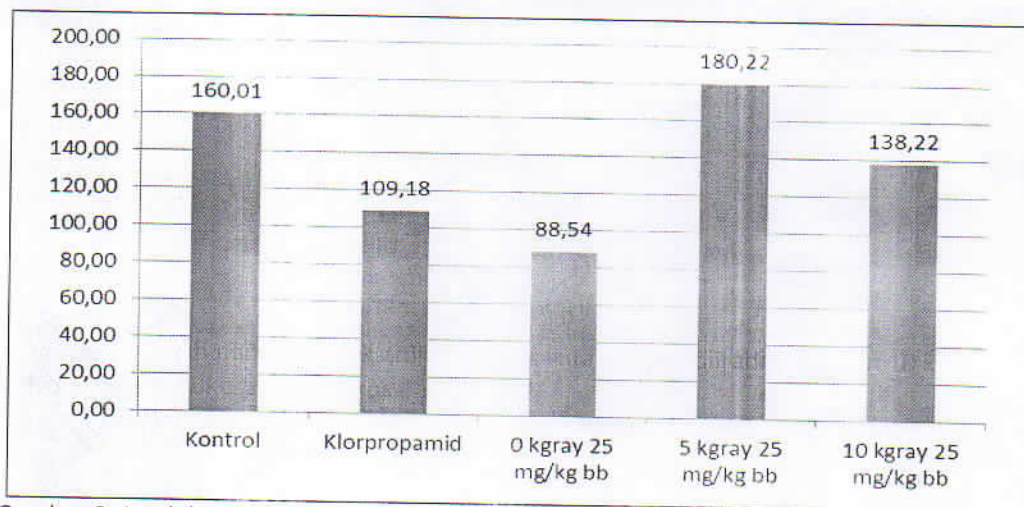
analisis statistik secara ANOVA menunjukkan bahwa pada mulai menit ke-30 sampai menit ke-180 terdapat tidak perbedaaan bermakna antar semua kelompok uji, tetapi berbeda secara nyata.



Gambar 2. Pengaruh pemberian ekstrak daun sirsak tanpa dan diiradiasi 5, dan 10 kGy terhadap kadar glukosa darah tikus

Keterangan:

- = kontrol
- = pembanding klorpropamid 22,5 mg/kg bb
- = ekstrak daun sirsak 0 kgray dosis 22,5 mg/kg bb
- = ekstrak daun sirsak 5 kgray dosis 22,5 mg/kg bb
- = ekstrak daun sirsak 10 kgray dosis 22,5 mg/kg bb



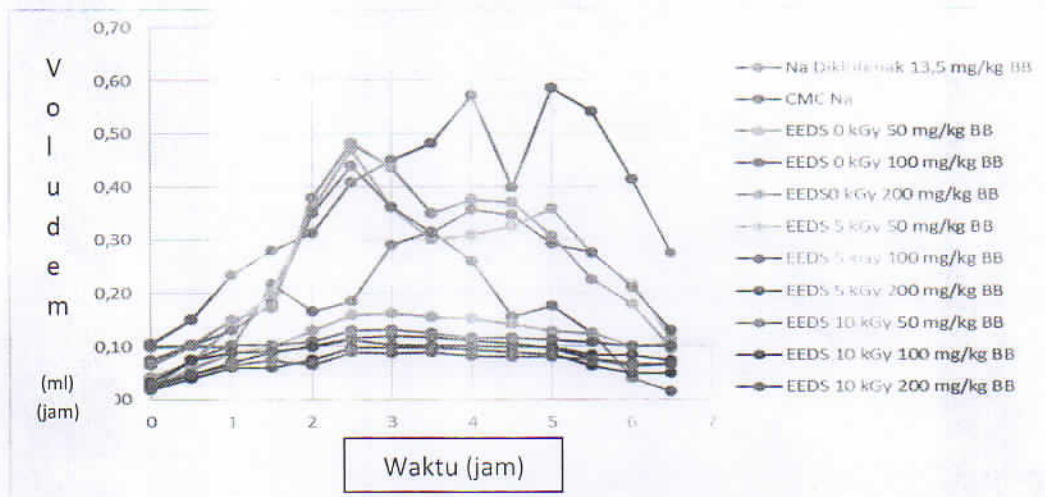
Gambar 3. Jumlah selisih kadar glukosa darah relatif tikus

### 5. Hasil pengujian antiinflamasi ekstrak daun sirsak pada tikus

Gambar 4 memperlihatkan profil kurva volume udem terhadap waktu antar kelompok perlakuan. Bila dibandingkan kontrol negative (pemberian CMC Na), nampak ada penurunan volume udem setelah pemberian kontrol positif (Na Diklofenak), dan ekstrak etanol daun sirsak (EEDS) tanpa dan iradiasi 5 dan 10 kGy serta variasi dosis.

Analisis selanjutnya yang perlu dilakukan adalah menghitung harga AUC kurva volume udem terhadap waktu menggunakan metode trapezoid dan diteruskan menghitung daya antiinflamasi

berbagai kelompok perlakuan terhadap kontrol negatif. Daya antiinflamasi dapat menggambarkan penurunan volume udem setelah diberi perlakuan yang dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif. Untuk melihat perbedaan harga AUC dan daya antiinflamasi antar kelompok perlakuan akan dilakukan analisis varian (ANOVA) dengan taraf kepercayaan 95%, dan analisis akan dilanjutkan menggunakan Tukey bila ditemukan ada perbedaan yang signifikan antar kelompok tersebut. Analisis ini masih dalam proses pekerjaan.



Gambar 4. Kurva purata volume udem terhadap waktu setelah pemberian berbagai perlakuan pada tikus terinduksi karagenin.

Tabel 5. Harga AUC volume udem terhadap waktu dan prosentase daya antiinflamasi setelah diberikan berbagai kelompok perlakuan pada tikus terinduksi karagenin

Kelompok	AUC (mL.jam) - Mean $\pm$ SEM	% DAI - Mean $\pm$ SEM
Kontrol negatif	2,51 $\pm$ 0,17	
Na Diklofenak 13,5 mg/kg BB	1,09 $\pm$ 0,21	56,38 $\pm$ 8,49
Ekstrak daun sirsak 0 kGy 50 mg/kg BB	1,73 $\pm$ 0,13	30,98 $\pm$ 5,23
Ekstrak daun sirsak 0 kGy 100 mg/kg BB	1,73 $\pm$ 0,20	30,95 $\pm$ 7,80
Ekstrak daun sirsak 0 kGy 200 mg/kg BB	1,80 $\pm$ 0,26	28,09 $\pm$ 10,28
Ekstrak daun sirsak 5 kGy 50 mg/kg BB	0,78 $\pm$ 0,10	68,88 $\pm$ 3,85
Ekstrak daun sirsak 5 kGy 100 mg/kg BB	0,47 $\pm$ 0,04	81,13 $\pm$ 1,76
Ekstrak daun sirsak 5 kGy 200 mg/kg BB	0,58 $\pm$ 0,08	76,68 $\pm$ 3,02
Ekstrak daun sirsak 10 kGy 50 mg/kg BB	0,70 $\pm$ 0,07	72,19 $\pm$ 2,61
Ekstrak daun sirsak 10 kGy 100 mg/kg BB	0,59 $\pm$ 0,08	76,30 $\pm$ 3,00
Ekstrak daun sirsak 10 kGy 200 mg/kg BB	0,47 $\pm$ 0,04	81,18 $\pm$ 1,60

Menurut data harga AUC volume udem terhadap waktu (Tabel 5), nampak bahwa setelah diberikan Na diklofenak dan ekstrak daun sirsak ada penurunan harga AUC dibanding kelompok kontrol negatif ( $p < 0,05$ ). Penurunan harga AUC yang signifikan dibanding kontrol negatif



menunjukkan bahwa pemberian perlakuan tersebut memiliki efek antiinflamasi. Harga prosentase daya antiinflamasi dapat dilihat pada Table 5.

## 6. Hasil pengujian imunomodulator ekstrak daun sirsak pada tikus

Pada penelitian ini ekstrak daun sirsak. tikus yang digunakan disari dengan menggunakan etanol yang merupakan pelarut yang dapat menarik senyawa polar maupun semipolar yang kemungkinan terkandung di dalam daun sirsak. Ekstrak tersebut selanjutnya diradiasi dengan kekuatan 10 kGy dan digunakan untuk penelitian uji imunomodulator dan digunakan kontrol tanpa radiasi (0 kGy). Sebagai pembandingnya digunakan kontrolnya yang tidak diradiasi (0 kGy). Penelitian ini menunjukkan bahwa bahwa pemberian ekstrak etanol daun sirsak (0 dan 10 kGy) secara peroral memiliki efek imunomodulator yang relatif signifikan pada mencit berdasarkan pengamatan proliferasi limfosit dan fagositosis makrofag. Pemberian radiasi tidak berpengaruh secara signifikan terhadap efek immunomodulator.

Tabel 6. Perubahan tingkat proliferasi limfosit kelompok mencit akibat perlakuan ekstrak etanol daun sirsak (*Annona muricata* L.) (EAM) (0 dan 10 kGy) selama 14 hari.

Kel	Perlakuan	Limfosit (% kontrol) (Purata ± SEM)
<b>Ekstrak etanol sirsak (0 kGy)</b>		
I.	Kontrol CMC Na 0.5%	100.89 ± 4.06
II.	EAM 50 mg/kg	102.58 ± 1.49
III.	EAM 100 mg/kg	105.53 ± 2.53*
IV	EAM 200 mg/kg	108.08 ± 4.23*
<b>Ekstrak etanol sirsak (10 kGy)</b>		
I.	Kontrol CMC Na 0.5%	100.06 ± 2.20
II.	EAM 50 mg/kg	100.30 ± 2.84
III.	EAM 100 mg/kg	104.31 ± 2.42*
IV	EAM 200 mg/kg	110.99 ± 1.21*

\*p<0.05 menunjukkan perbedaan yang bermakna terhadap kelompok kontrol CMC Na 0.5%

Limfosit memiliki kemampuan untuk membedakan benda asing dari jaringannya sendiri, karena memiliki reseptor di permukaan sel, *Toll Receptor Cell* (TCR). Limfosit T (Sel T) berfungsi membantu sel B dalam memproduksi antibodi, mengenal dan menghancurkan sel yang terinfeksi, mengaktifkan makrofag dalam fagositosis dan mengontrol ambang dan kualitas sistem imun [5]. Pemberian ekstrak etanol sirsak dosis 100 dan 200 mg/kg BB (0 dan 10 kGy) terbukti meningkatkan tingkat proliferasi limfosit dibanding kontrol (Tabel 6). Adanya kandungan senyawa yang terkandung didalam ekstrak seperti flavonoid, alkaloid maupun polifenol yang kemungkinan bertindak sebagai imunomodulator [6,7].

Selanjutnya pada penelitian ini juga diteliti efek ekstrak etanol daun sirsak terhadap aktivitas makrofag. Makrofag berperan penting pada mekanisme kerja sistem imunitas, baik pada sistem imunitas seluler maupun sistem imun humoral [8,9]. Makrofag merupakan salah satu efektor yang berperan untuk mengeliminasi parasit melalui mekanisme fagositosis pada sistem imun tak spesifik. Aktivitas makrofag dapat ditingkatkan dengan agen imunostimulansia, baik berupa vaksin maupun senyawa kimia termasuk senyawa dari bahan alam. Sehingga pada penelitian ini dilakukan untuk meneliti efek imunomodulator dari bahan alam ekstrak etanol daun sirsak terhadap aktivitas fagositosis makrofag.

Tabel 7. Aktivitas fagositosis makrofag kelompok mencit akibat perlakuan ekstrak daun sirsak (*Annona muricata* L.) (EAM) (0 dan 10 kGy) selama 14 hari.

Kel	Perlakuan	Jumlah makrofag yang memfagositosis lateks (%) (Purata ± SEM)	Jumlah lateks yang difagositosis 120 makrofag (Purata ± SEM)
Ekstrak (0 kGy)			
I.	Kontrol CMC Na 0.5%	60.42 ± 8.54	133.80 ± 28.97
II.	EAM 50 mg/kg	60.84 ± 8.17	132.50 ± 37.86
III.	EAM 100 mg/kg	60.84 ± 8.15	138.60 ± 26,67
IV	EAM 200 mg/kg	69.75 ± 3.97*	162,70 ± 21,42*
Ekstrak (10 kGy)			
I.	Kontrol CMC Na 0.5%	83.42 ± 4.20	260.30 ± 41.32
II.	EAM 50 mg/kg	85.42 ± 6.47	307.38 ± 50.36
III.	EAM 100 mg/kg	79.17 ± 4.11	247.57 ± 8.77
IV	EAM 200 mg/kg	79.58 ± 4.24	292.40 ± 89.01

\* $p < 0.05$  menunjukkan perbedaan yang bermakna terhadap kelompok kontrol CPA

Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian ekstrak etanol daun sirsak dosis 200 mg/kg BB (0kGy), terbukti secara bermakna meningkatkan jumlah dan aktivitas makrofag dalam memfagositosis lateks dan pada dosis radiasi 10 kGy dosis 200 mg/kg BB juga menunjukkan kecenderungan meningkatkan jumlah lateks yang difagosit walaupun secara statistik tidak bermakna (Tabel 7.).

Hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol daun sirsak dosis 100-200 mg/kg BB memiliki aktivitas imunostimulator. Pengaruh radiasi tidak bermakna terhadap limfosit maupun fagositosis makrofag.

## 7. Hasil pengujian antikanker daun sirsak

Telah diperoleh % inhibisi dari 80 ppm ekstrak etanol dari daun sirsak kontrol dan yang diiradiasi 7,5 kGy terhadap sel HeLa, 92 dan 85%; ekstrak etil asetat 74 dan 87%; % inhibisi dari 16 ppm fraksi ke-8 adalah 74 dan 70%.



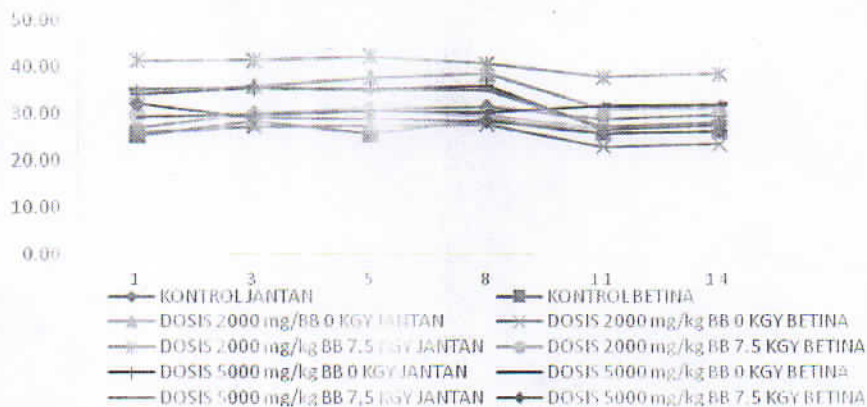


Gambar 5. Penanaman sel kanker ke dalam media tumbuh dan menghitung sel; Sel kanker MCF-7

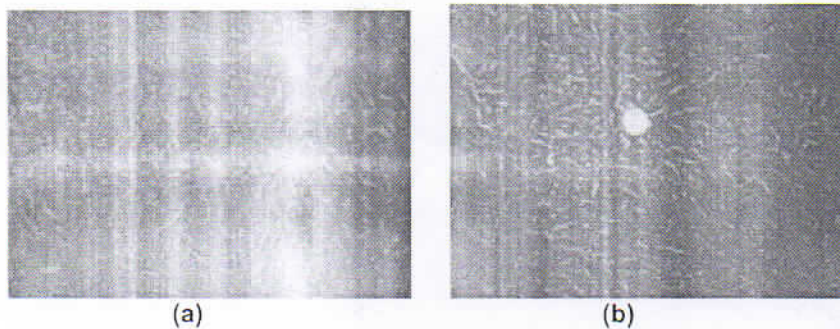
Juga telah diperoleh % Inhibisi dari 80 ppm ekstrak etanol daun sirsak kontrol dan yang diiradiasi 7,5 kGy terhadap sel kanker payudara MCF-7 78 dan 74%; ekstrak etil asetat 74 dan 75%; % inhibisi dari 16 ppm fraksi ke-8 adalah 72 dan 72%.

### 8. Hasil pengujian toksisitas daun sirsak pada mencit

Hasil uji toksisitas akut menunjukkan bahwa secara keseluruhan berdasarkan hasil pemeriksaan histopatologi pemberian sediaan uji ekstrak etanol daun sirsak yang tidak diiradiasi dan yang diiradiasi (7.5 kGy) pada limit test dosis 2.000 dan 5.000 mg/kg BB tidak menunjukkan spektrum wujud efek toksik – khas yang berarti pada organ-organ vital mencit jantan dan betina (Gambar 7).



Gambar 6. Grafik berat badan mencit sampai hari ke-14



Ekstrak daun sirsak yang tidak diiradiasi (a) dan yang diiradiasi 7,5 kGy (b)

Gambar 7. Hasil uji histologi jaringan hepar mencit yang diberi dosis 5.000 mg/kg

#### BAB IV. KESIMPULAN

Perlakuan iradiasi sinar gamma pada dosis 10 kGy dapat menurunkan persentase rendeman ekstrak daun sirsak, menurunkan angka kuman sebesar lima desimal, dan menurunkan angka kapang sebesar empat desimal. Namun perlakuan iradiasi tidak mempengaruhi khasiatnya sebagai antidiabetes, antiinflamasi, imunomodulator, antikanker, dan tidak toksik melalui uji toksistas akut pada mencit.

#### UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih disampaikan kepada Kepala PAIR BATAN yang telah menyetujui penelitian melalui DIPA 2015. Penulis juga mengucapkan terima kasih kepada rekan-rekan Instalasi Fasilitas Irradiator PAIR yang telah membantu pelaksanaan iradiasi sampel. Kepada Prof. Dr. Afifah B. Sutjiatmo, MS., Apt. dkk., UNJANI, dan Dr. Arief Nurrochmad, M.Si., M.Sc., Apt., dkk. UGM yang telah melakukan pelaksanaan pengujian praklinis.

#### DAFTAR PUSTAKA

1. Sunarjono H. 2005. *Sirsak dan Srikaya : Budi Daya untuk Menghasilkan Buah Prima*. Bogor: Penebar Swadaya.
2. Taylor L. 2002. *Technical Data Report For Graviola Annona muricata, 2<sup>nd</sup> edition*. Austin : Sage Press.
3. Wijayanti, M.A., 1996, Peranan Makrofag dalam Imunitas terhadap Infeksi Malaria: Kajian Kemampuan Fagositosis dan Sekresi Reactive Oxygen Intermediates Makrofag Peritoneum Mencit yang Diimunisasi dan tidak Di-imunisasi In Vitro, *Tesis*, Program Pascasarjana Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.
4. American Cancer Society, 2005, *Cancer Facts and Figures*, American Cancer Society, Atlanta, GA: American Cancer Society.
- 5, Baratawidjaya, KG, 2000. *Imunologi Dasar*, Balai Penerbit Fak. Kedokteran UI, Jakarta.
6. BFOM, 2000, *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*, Depkes RI.
7. Burnet, M. 1995. *The helper T-cell responses*, pp. 139-154. In I. R. Tizard (ed.). *Immunology, an Introduction*, 4th Ed. Saunders, Philadelphia.
8. Butt, A.J., McNeil, C. M., Musgrove, E.A., and Sutherland, R.L., 2005, Downstream Targets Of Growth Factor and Oestrogen Signalling and Endocrine Resistance: The Potential Roles of C-Myc, Cyclin D1 And Cyclin E, *Endocrine-Related Cancer*, **12**, 47-59.
9. Clark, B. D., I. Bedrosian, R. Schindler, F. Cominelli, J. G. Cannon, A. R. Shaw, and C. A. Dinarello. 1991. Detection of interleukin 1 alpha and 1 beta in rabbit tissues during endotoxemia using sensitive radioimmunoassays. *J. Appl. Physiol.* **71**: 2412-2418.