

PENGARUH RADIOPASTEURISASI PADA SIMPLISIA DAGING BUAH MAHKOTA DEWA (*Phaleria macrocarpa* (Scheff) Boerl.) TERHADAP AKTIVITAS ANTI KANKER

Ermin Katrin dan Hendig Winarno

Pusat Aplikasi Teknologi Isotop dan Radiasi- BATAN

Jl. Lebak Bulus Raya No. 49, Pasar Jumat, Jakarta Selatan

Telp.021-7690709; Fax: 021-7691607

ABSTRAK

PENGARUH RADIOPASTEURISASI PADA SIMPLISIA DAGING BUAH MAHKOTA DEWA (*Phaleria macrocarpa* (Scheff) Boerl.) TERHADAP AKTIVITAS ANTI KANKER. Telah dilakukan penelitian radiopasteurisasi simplisia daging buah Mahkota Dewa. Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan dosis awet radiasi yang tepat sehingga tidak ada kerusakan pada senyawa anti kanker dalam simplisia daging buah mahkota dewa. Simplisia daging buah mahkota dewa diiradiasi dengan ⁶⁰Co pada beberapa variasi dosis 0; 5; 7,5 ; 10; 15; dan 20 kGy dengan laju dosis 10 kGy/jam. Simplisia daging buah yang telah diiradiasi, masing-masing kemudian dimaserasi dengan etanol. Ekstrak etanol dipisahkan dan difraksinasi dengan kolom kromatografi sehingga diperoleh 8 fraksi. Ekstrak etanol dan fraksi 6 diuji daya hambatnya terhadap pertumbuhan sel leukemia L1210 dan diamati perubahan kromatogramnya dengan kromatografi cair kinerja tinggi (KCKT). Fraksi 3 dari ekstrak etanol daging buah mahkota dewa setelah perlakuan iradiasi menunjukkan penurunan aktivitas sitotoksik terhadap pertumbuhan sel leukemia L1210 tetapi masih dalam batas aktif dengan nilai IC₅₀ < 50 µg/mL. Pemeriksaan profil kromatogram dengan KCKT diperoleh 1 puncak mayor yang mengalami perubahan intensitas (sekitar 89 %) akibat dosis iradiasi 10 kGy, sehingga diduga telah terjadi perubahan struktur senyawa dalam fraksi aktif tersebut.

Kata kunci : radiopasteurisasi, mahkota dewa, daging buah *Phaleria macrocarpa* (Scheff.) Boerl, anti kanker

ABSTRACT

RADIOPASTEURIZATION EFFECT ON MAHKOTA DEWA (*Phaleria macrocarpa* (Scheff) Boerl.) FRUIT AGAINST ANTI CANCER ACTIVITY. It was carried out the research about radiopasteurization of Mahkota Dewa fruit. This research purposed to get the exact irradiation dose to preserve, in order that the cancer agent compounds in Mahkota Dewa fruit are not damaged. Mahkota dewa fruit were irradiated using ⁶⁰Co at the variation doses 0; 5; 7,5 ; 10; 15; and 20 kGy with the dose rate 10 kGy/hour. After irradiation, then mahkota dewa fruit were maserated in ethanol, respectively. Ethanol extract were concentrated and fractionated using chromatography column, so it were obtained 8 fractions. Ethanol extract and fraction 3 were analysed their inhibition activities against leukemia L1210 cell growth and observed their chromatograms changes using high pressure liquid chromatography (HPLC). Fraction 3 of mahkota dewa fruit ethanol extract after irradiation treatment show that the decreasing of cytotoxic activities against leukemia L1210 cells growth, but they were still in the active range with IC₅₀ value < 50 µg/mL. The check of chromatogram profile using HPLC were obtained 1 major peak, the increasing dose until 10 kGy caused the changes of peak intensity (about 89 %), so that it were suggested that compound structure in the active fraction was changed.

Key word : radiopasteurization, mahkota dewa, *Phaleria macrocarpa* (Scheff.) Boerl fruit, anti cancer

PENDAHULUAN

Tanaman mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa* (Scheff) Boerl.) telah dimanfaatkan sebagai obat secara komersial. Industri tanaman obat tradisional telah menggunakan simplisia mahkota dewa berbagai ramuan obat dalam bentuk kapsul. Penelitian terhadap simplisia mahkota dewa ini masih dilakukan untuk memperoleh acuan informasi yang lengkap, baik dari segi fitokimia maupun

dari segi farmakologi, sehingga mahkota dewa dapat dimanfaatkan secara optimal sebagai salah satu bentuk pengobatan alternatif.

Tanaman mahkota dewa digunakan sebagai obat berdasarkan pengalaman semata. Acuan pustaka yang telah ada menyebutkan bahwa tanaman mahkota dewa umumnya memiliki aktivitas antimikroba dan menunjukkan adanya potensi sebagai anti kanker, karena toksisitas yang dimilikinya. LISDAWATI menguji ekstrak tanaman mahkota dewa terhadap larva udang *Artemia salina* Leach, nilai IC_{50} tinggi yaitu 0,16 – 11,84 $\mu\text{g/ml}$ dan daya hambat terhadap pertumbuhan sel leukemia L1210 sebesar 4,99 -7,71 $\mu\text{g/ml}$ (1). Pada tahun 2005 WAHYUNINGSIH menemukan senyawa baru dalam daun mahkota dewa dinamakan *phalerin* (4,5-dihidroksi,4'-metoksibensofenon-3-O- β -D-glukosida yang tidak toksik dan diduga dapat berfungsi sebagai imunostimulan (2). Peneliti dari Cina pada tahun 2006 juga telah menemukan suatu senyawa baru dalam daging buah yaitu *mahkoside* A (4,4'-dihidroksi-2-metoksibensofenon-6-O- β -D-glukopiranosida dan 6 senyawa lain mangiferin, kaempferol-3-O- β -D-glukosida, asam dodekanoat, asam palmitat, etil stearat dan sukrosa (3).

Akhir-akhir ini pemanfaatan iradiasi gamma untuk dekontaminasi mikroba dan pengawetan simplisia tanaman obat mulai populer dilakukan oleh beberapa perusahaan obat tradisional. Iradiasi gamma sangat membantu untuk mengurangi jumlah cemaran mikroba dan mempertahankan simplisia agar khasiatnya tidak menurun akibat kontaminasi mikroba tersebut. Teknik pengawetan secara iradiasi merupakan salah satu teknologi alternatif yang dapat dimanfaatkan untuk mempertahankan kualitas dan keamanan bahan simplisia. Iradiasi pada dosis tertentu memiliki keunggulan, diantaranya sifat sinar gamma yang mempunyai daya tembus besar, bersifat tidak menaikkan suhu bahan yang diproses sehingga tidak mempengaruhi penampilan, dan bahan yang akan diiradiasi dapat dikemas dan tidak meninggalkan residu apapun di dalam produk yang diproses serta ramah lingkungan (4).

Pada penelitian ini akan dipelajari pengaruh iradiasi gamma terhadap aktivitas sitotoksik simplisia daging buah mahkota dewa *Phaleria macrocarpa* (Scheff.) Boerl, dimana dalam fraksi 3 ekstrak etanol dari daging buah mahkota dewa merupakan fraksi paling aktif menghambat pertumbuhan sel leukemia L1210 (5), serta diharapkan pada dosis tertentu iradiasi tidak merusak senyawa aktifnya. Selain uji daya hambat fraksi aktif terhadap sel leukemia L1210, akan dilakukan juga identifikasi profil kromatogram KCKT dari simplisia sebelum maupun sesudah diiradiasi.

BAHAN DAN METODE

Bahan. Simplisia kering yang digunakan pada penelitian ini adalah rajangan dari daging buah mahkota dewa [*Phaleria Macrocarpa* (Scheff) Boerl.] yang diperoleh dari kebun petani mahkota dewa di Desa Cibeuteung, Parung, Bogor, Jawa Barat. Bahan kimia yang digunakan yaitu

etanol 96 %, *n*-heksan, etil asetat, kloroform, metanol, silika gel 60 (70-230 mesh), H₂SO₄, serium sulfat (CeSO₄) 1 %, lempeng silika gel 60 F₂₅₄, bides, sel leukemia L1210, biru tripan 0,4 % dan nitrogen cair.

Alat. Alat-alat yang digunakan ialah kromatografi cair kinerja tinggi (KCKT) Shimadzu SPD-6A, detektor uv pada λ 254 nm, kolom varian microsorb MV 100-5, C-18 (250 x 4,6 mm), spektrofotometer UV-VIS HP-8345, penguap putar, eksikator, neraca analitik, kolom kaca untuk kromatografi (diameter 3 cm, panjang 50 cm), inkubator CO₂, *Multiwell plate tissue's culture*, mikroskop, *haemocytometer Neubauer improved*, dan alat-alat gelas.

METODE

Pembuatan Ekstrak Daging Buah. Seberat 100 g simplisia kering daging buah mahkota dewa dimaserasi 4 kali dalam etanol 2 liter. Ampasnya dimaserasi lagi dengan etanol dan seterusnya diulang 3 kali. Filtrat disaring dan diuapkan dengan penguap putar vakum, sehingga diperoleh residu yang kental.

Pemisahan Ekstrak Etanol dengan Kromatografi Kolom. Ekstrak etanol seberat 2 gram difraksinasi menggunakan kolom silika. Eluen yang digunakan *n*-heksan, etil asetat, dan metanol yang dicampur dengan menaikkan kepolaran pelarut secara bertahap. Pemisahan dilakukan dengan pengeluasi sistem landaian (gradien) *n*-heksan, campuran *n*-heksan-etil asetat, etil asetat, etil asetat-metanol dan metanol. Masing-masing fraksi ditampung sebanyak kurang lebih 200 ml dan diperoleh 8 fraksi. Setiap fraksi diuapkan dengan penguap putar vakum sampai kering, kemudian ditimbang beratnya.

Identifikasi dengan Kromatografi lapis tipis (KLT). Terhadap ekstrak etanol dan fraksi hasil fraksinasi kolom dianalisis dengan KLT. Penampak bercak digunakan pereaksi 1% serium sulfat dalam 10% H₂SO₄.

Uji aktivitas sitotoksik terhadap Sel Leukemia L1210 (12). Pengujian aktivitas dilakukan pada ekstrak etanol dan fraksi-fraksi dari simplisia daging buah sebelum dan sesudah iradiasi. Pengujian aktivitas pada ekstrak dilakukan dengan variasi kadar ekstrak 5, 10, 20, 40, dan 80 μ g/ml medium yang mengandung 1 ml suspensi sel leukemia L1210 yang dimasukkan ke dalam *multi well plate tissue's culture*. Pengujian aktivitas fraksi dengan variasi kadar fraksi 1, 2, 4, 8, dan 16 μ g/ml. Sebagai kontrol digunakan 10 μ l metanol yang telah ditambahkan 1 ml suspensi sel. Percobaan dilakukan duplo, selanjutnya suspensi sel yang telah diisi zat uji diinkubasi pada suhu 37 °C dalam inkubator CO₂ 5% selama 48 jam.

Perhitungan sel dilakukan menggunakan *haemocytometer Neubauer improved* (0,100 mm, 0,0025 mm²). Untuk membedakan antara sel hidup dengan sel mati dapat diamati di bawah

mikroskop dengan pewarnaan biru tripan dimana sel-sel yang hidup tidak terwarnai oleh biru tripan. Aktivitas sitotoksik yang dinyatakan dalam persentase inhibisi dihitung terhadap jumlah sel leukemia L1210 total.

Persentase penghambatan zat uji terhadap pertumbuhan sel leukemia L1210 dihitung sebagai berikut:

$$\% \text{ inhibisi} = (1 - (A/B)) \times 100\%$$

A : jumlah sel total (hidup dan mati) dalam media yang mengandung zat uji

B : jumlah sel total (hidup dan mati) dalam media yang tidak mengandung zat uji

Data persentase inhibisi diplotkan ke tabel probit untuk memperoleh nilai probit, lalu dibuat grafik antara log konsentrasi (x) dan probit (y) sehingga diperoleh persamaan regresi linier $y = a + b x$. Dengan memasukkan nilai $y = 5$ (probit dari 50%), maka nilai IC_{50} diperoleh dengan mengkonversikan nilai log konsentrasi ke bentuk anti log. IC_{50} yaitu konsentrasi zat uji yang dapat menghambat pertumbuhan sel sebesar 50%. Ekstrak dengan nilai $IC_{50} \leq 50 \mu\text{g/ml}$ dinyatakan aktif menghambat pertumbuhan sel leukemia L1210 (13).

Pemeriksaan Profil Kromatogram dengan KCKT. Pemeriksaan profil kromatogram fraksi 3 dari ekstrak etanol daging buah mahkota dewa dari berbagai dosis iradiasi dilakukan dengan menggunakan kromatografi cair kinerja tinggi (KCKT). Sebagai fase gerak digunakan campuran fase gerak metanol - akuabides (70 : 30) dan kecepatan alir 0,4 mL/menit.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Uji cemaran mikroba. Hasil rata-rata uji cemaran mikroba terhadap simplisia daging buah mahkota dewa *Phaleria macrocarpa* (Scheff.) dari ulangan 1 dan ulangan 2 setelah diiradiasi dengan dosis 5; 7,5; 10; 15; dan 20 kGy diperlihatkan pada Tabel 1. Hasil pemeriksaan cemaran mikroba menunjukkan bahwa pada rajangan simplisia daging buah mahkota dewa setelah iradiasi dengan dosis 5 sampai 20 kGy tidak ada pertumbuhan bakteri dan kapang khamir, sedangkan pada simplisia yang tidak diiradiasi (kontrol) mengalami pertumbuhan bakteri sebanyak $4,45 \times 10^7$ Kol/g dan pertumbuhan kapang khamir sebanyak $1,40 \times 10^7$ Kol/g. Hal ini sesuai dengan prinsip pengawetan dengan proses iradiasi dimana sel hidup akan terbunuh dengan jalan menghambat sintesis DNA sehingga mikroba tidak dapat membelah diri. Iradiasi hingga dosis 10 kGy merupakan proses pasteurisasi, untuk mengurangi jumlah mikroba, sedang iradiasi pada dosis 15 – 20 kGy merupakan proses sterilisasi, digunakan untuk membunuh semua mikroba yang ada (10).

Tabel 1. Hasil uji cemaran bakteri dan kapang-khamir terhadap simplisia Daging buah mahkota dewa pada berbagai dosis iradiasi

Dosis Iradiasi (kGy)	Jumlah rata-rata bakteri (Kol/g)	Jumlah rata-rata kapang dan khamir (Kol/g)
Kontrol	4,45 x 10 ⁷	1,40 x 10 ⁷
5	0	0
7,5	0	0
10	0	0
15	0	0
20	0	0

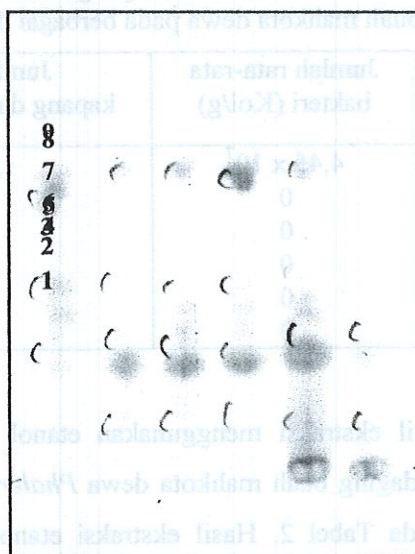
Pembuatan ekstrak. Hasil ekstraksi menggunakan etanol rata-rata dari 2 ulangan dari masing-masing 100 g simplisia daging buah mahkota dewa *Phaleria macrocarpa* (Scheff.) Boerl setelah iradiasi, ditunjukkan pada Tabel 2. Hasil ekstraksi etanol daging buah mahkota dewa diperoleh ekstrak berwarna coklat tua dan memiliki bobot ekstrak yang hampir sama.

Tabel 2. Hasil ekstraksi rajangan simplisia daging buah mahkota dewa setelah iradiasi

Dosis Iradiasi (kGy)	Warna	Bobot ekstrak rata-rata (g)
Kontrol	Coklat tua	17,03
5	Coklat tua	18,51
7,5	Coklat tua	16,06
10	Coklat tua	18,12
15	Coklat tua	18,25
20	Coklat tua	19,98

Hal ini menunjukkan bahwa perlakuan iradiasi tidak mempengaruhi bobot ekstrak etil asetat yang dihasilkan.

Identifikasi dengan KLT. Fraksi 3 yang merupakan fraksi aktif dari berbagai dosis iradiasi dianalisis secara KLT dengan eluen *n*-heksan – etil asetat (2 : 1) dan dibandingkan profil kromatogramnya. Hasil kromatogram lapis tipis fraksi 3 diperlihatkan pada Gambar 1. Profil kromatogram KLT menunjukkan sedikitnya terdapat 9 bercak komponen yang terkandung dalam fraksi 3. Di antara beberapa bercak yang terdapat di dalam fraksi 3, bercak 2 merupakan merupakan bercak utama dan bersifat lebih polar dibandingkan dengan komponen 3 sampai dengan 9. Pada KLT simplisia yang diiradiasi dengan dosis 5 kGy, komponen 7 dan 8 tidak muncul, selanjutnya pada dosis 20 kGy komponen yang hilang bertambah yaitu komponen 4, 5 dan 9.



Gambar 1. Kromatografi lapis tipis fraksi 3 dari berbagai dosis iradiasi (Fase gerak : n-heksan – etil asetat (2 : 1); Fase Diam : silika gel GF₂₅₄; Deteksi : sinar UV 254 nm; Penampak bercak : 1% serium sulfat)

Tabel 3. Hasil uji aktivitas sitotoksik ekstrak etil asetat kulit batang mahkota dewa setelah iradiasi terhadap sel leukemia L1210 (ulangan 1)

Dosis iradiasi (kGy)	Konsentrasi (µg/ml)	Jumlah sel total (x 10 ⁴)			% Inhibisi	Log konsentrasi	Persamaan Regresi linier	IC ₅₀ (µg/ml)
		1	2	Rata2				
Kontrol	kontrol	120	120	120	-	-	y = 3,13x + 1,52	12,92
	5	100	100	100	16,67	0,70		
	10	70	80	75	37,50	1,00		
	20	55	55	55	54,17	1,30		
	40	15	20	17,5	85,42	1,60		
	80	0	0	0	100	1,90		
5	kontrol	115	110	112,5	-	-	y = 3,10x + 1,39	14,66
	5	95	105	100	11,11	0,70		
	10	70	80	75	33,33	1		
	20	50	50	50	55,56	1,30		
	40	35	25	30	73,33	1,60		
	80	5	5	5	95,56	1,90		
7,5	kontrol	130	125	127,5	-	-	y = 3,10x + 1,34	15,13
	5	105	115	110	13,73	0,70		
	10	85	90	87,5	31,37	1,00		
	20	70	70	70	45,10	1,30		
	40	40	40	40	68,63	1,60		
	80	0	0	0	100,00	1,90		
10	kontrol	125	115	120	-	-	y = 3,52x + 0,55	18,32
	5	115	115	115	4,17	0,70		
	10	90	90	90	250	1,00		
	20	70	75	72,5	39,58	1,30		
	40	45	40	42,5	60,42	1,60		
	80	0	0	0	100,00	1,90		

15	kontrol	125	120	122,5	-	-	$y = 4,04x - 0,21$	19,46
	5	120	120	120	2,04	0,70		
	10	110	110	110	10,20	1,00		
	20	65	70	67,5	44,90	1,30		
	40	30	35	32,5	73,47	1,60		
	80	0	0	0	100,00	1,90		
20	kontrol	105	120	112,5	-	-	$y = 4,09x - 0,35$	20,43
	5	95	95	95	15,56	0,70		
	10	85	80	82,5	26,67	1		
	20	75	75	75	33,33	1,30		
	40	50	55	52,5	53,33	1,60		
	80	35	35	35	68,89	1,90		

Tabel 4. Hasil uji aktivitas sitotoksik ekstrak etil asetat kulit batang mahkota dewa setelah iradiasi terhadap sel leukemia L1210 (ulangan 2)

Dosis iradiasi (kGy)	Konsentrasi ($\mu\text{g/ml}$)	Jumlah sel total ($\times 10^4$)			% Inhibisi	Log konsentrasi	Persamaan Regresi linier	IC ₅₀ ($\mu\text{g/ml}$)
		1	2	Rata2				
Kontrol	kontrol	125	125	125	-	-	$y = 2,79x + 1,97$	12,20
	5	90	90	90	28,00	0,70		
	10	80	85	82,5	34,00	1,00		
	20	50	50	50	60,00	1,30		
	40	25	40	32,5	74,00	1,60		
	80	0	0	0	100,00	1,90		
5	kontrol	120	125	122,5	-	-	$y = 2,93x + 1,68$	13,57
	5	105	105	105	14,29	0,70		
	10	85	80	82,5	32,65	1,00		
	20	60	65	62,5	48,98	1,30		
	40	25	45	35	71,43	1,60		
	80	0	0	0	100,00	1,90		
7,5	kontrol	130	120	125	-	-	$y = 2,08x + 2,26$	13,57
	5	115	115	115	8,00	0,70		
	10	85	90	87,5	30,00	1,00		
	20	45	55	50	60,00	1,30		
	40	35	30	32,5	74,00	1,60		
	80	0	0	0	100,00	1,90		
10	kontrol	125	125	125	-	-	$y = 3,44x + 0,84$	16,27
	5	115	115	115	8,00	0,70		
	10	100	95	97,5	22,00	1,00		
	20	60	60	60	52,00	1,30		
	40	35	35	35	72,00	1,60		
	80	0	0	0	100,00	1,90		
15	kontrol	125	120	122,5	-	-	$y = 3,99x - 0,22$	20,45
	5	120	120	120	2,04	0,70		
	10	110	110	110	10,20	1,00		
	20	75	85	80	34,69	1,30		
	40	40	40	40	67,35	1,60		
	80	0	0	0	100,00	1,90		
20	kontrol	125	125	125	-	-	$y = 4,12x - 0,55$	22,34
	5	120	125	122,5	2	0,70		
	10	115	120	117,5	6	1,00		
	20	70	70	70	44	1,30		
	40	40	40	40	68	1,60		
	80	0	0	0	100	1,90		

Tabel 5. Hasil uji aktivitas sitotoksik rata-rata dari ekstrak etanol daging buah mahkota dewa setelah iradiasi terhadap sel leukemia L1210

Dosis iradiasi (kGy)	IC ₅₀ (µg/ml)
Kontrol	12,56
5	14,11
7,5	15,13
10	17,30
15	19,95
20	21,39

Uji aktivitas sitotoksik ekstrak etanol. Hasil uji aktivitas sitotoksik ekstrak etil asetat terhadap pertumbuhan sel leukemia L1210 diperlihatkan pada Tabel 3 (ulangan 1) dan Tabel 4 (ulangan 2). Nilai IC₅₀ rata-rata dari 2 ulangan ditampilkan pada Tabel 5, dapat dilihat bahwa ekstrak etil asetat kulit batang mahkota dewa yang telah diiradiasi memperlihatkan penurunan kontrol dan dosis iradiasi ≥ 10 kGy. Menurut *Drug Bioscreening* (14), ekstrak dinyatakan memiliki aktivitas sitotoksik jika nilai IC₅₀ ≤ 20 µg/ml. Dengan demikian disimpulkan bahwa perlakuan iradiasi dosis sampai dengan 10 kGy masih dapat mempertahankan aktivitas sitotoksik ekstrak etanol daging buah mahkota dewa, namun perlakuan iradiasi dosis 15 dan 20 kGy dapat menurunkan aktivitas sitotoksik ekstrak etanol daging buah mahkota dewa (nilai IC₅₀ makin meningkat).

Uji aktivitas sitotoksik fraksi-fraksi. Hasil uji aktivitas 8 fraksi dari simplisia yang tidak diiradiasi (0 kGy) menunjukkan bahwa fraksi-fraksi tersebut menghambat pertumbuhan sel leukemia L1210 dengan nilai IC₅₀ < 50 µg/ml. Fraksi 3 mempunyai aktivitas paling tinggi dengan nilai IC₅₀ 4,96 µg/ml diikuti fraksi 7 (6,53 µg/ml), fraksi 6 (7,22 µg/ml), fraksi 8 (9,25 µg/ml), fraksi 5 (10,52 µg/ml), fraksi 4 (10,82 µg/ml), fraksi 1 (12,56 µg/ml), dan fraksi 2 (16,09 µg/ml). Tabel 6 memperlihatkan hasil uji aktivitas 8 fraksi terhadap pertumbuhan sel leukemia L1210 dengan nilai IC₅₀ < 50 µg/ml. Fraksi dengan nilai IC₅₀ terendah, yakni fraksi 3 dianalisis lebih lanjut. Selanjutnya hasil dari uji aktivitas fraksi 3 pada dosis 0; 5; 7,5; 10; 15; 20 kGy ulangan 1 diperlihatkan pada Tabel 7 dan ulangan 2 pada Tabel 8. Tetapi menurut *The Oncologist* (13), ekstrak dinyatakan aktif menghambat pertumbuhan sel leukemia L1210 dengan nilai IC₅₀ < 50 µg/ml. Dengan demikian perlakuan iradiasi hingga dosis 20 kGy masih dapat mempertahankan aktivitas sitotoksik ekstrak etil asetat kulit batang mahkota dewa.

Tabel 6. Hasil uji aktivitas fraksi 1-8 terhadap pertumbuhan sel leukemia L1210

Konsentrasi ($\mu\text{g/ml}$)	Jumlah sel total ($\times 10^5$)			% inhibisi	Log konsentrasi	Persamaan Regresi linier	IC ₅₀ ($\mu\text{g/ml}$)
	1	2	rata2				
Fraksi 1							
Kontrol	120	115	117,5	-	-		
1	110	120	115	2,13	0	y = 1,69x + 3,14	12,56
2	95	105	100	14,90	0,30		
4	95	95	95	19,15	0,60		
8	75	80	77,5	34,04	0,90		
16	50	50	50	57,45	1,20		
Fraksi 2							
Kontrol	115	115	115	-	-		
1	115	110	112,5	2,17	0	y = 1,60x + 3,07	16,09
2	100	105	102,5	10,87	0,30		
4	90	100	95	17,39	0,60		
8	85	90	87,5	23,91	0,90		
16	55	50	52,5	54,35	1,20		
Fraksi 3							
Kontrol	105	110	107,5	-	-		
1	95	95	95	11,63	0	y = 1,88x + 3,69	4,96
2	90	85	87,5	18,61	0,30		
4	65	65	65	39,54	0,60		
8	35	35	35	67,44	0,90		
16	15	20	17,5	83,72	1,20		
Fraksi 4							
Kontrol	115	120	117,5	-	-		
1	110	110	110	6,38	0	y = 1,61x + 3,33	10,82
2	110	105	107,5	8,51	0,30		
4	90	85	87,5	25,53	0,60		
8	75	70	72,5	38,30	0,90		
16	40	45	42,5	63,83	1,20		
Fraksi 5							
Kontrol	110	120	115	-	-		
1	110	105	107,5	6,52	0	y = 1,59x + 3,37	10,55
2	100	105	102,5	10,87	0,30		
4	85	90	87,5	23,91	0,60		
8	80	75	77,5	32,61	0,90		
16	40	30	35	69,57	1,20		
Fraksi 6							
Kontrol	120	120	120	-	-		
1	115	120	117,5	2,08	0	y = 2,33x + 3,0	7,22
2	110	115	112,5	6,25	0,30		
4	65	70	67,5	43,75	0,60		
8	45	60	52,5	56,25	0,90		
16	30	35	32,5	72,92	1,20		
Fraksi 7							
Kontrol	125	115	120	-	-		
1	125	110	117,5	2,08	0	y = 2,36x + 3,08	6,53
2	110	100	105	12,50	0,30		
4	75	80	77,5	35,42	0,60		
8	40	55	47,5	60,42	0,90		
16	20	30	25	79,17	1,20		

Fraksi 8							
Kontrol	120	125	122,5		-		
1	120	120	120	2,04	0		
2	115	120	117,5	4,08	0,30	$y = 2,22x + 2,86$	9,24
4	85	90	87,5	28,57	0,60		
8	65	75	70	42,86	0,90		
16	40	35	37,5	69,39	1,20		

Tabel 7. Hasil uji aktivitas sitotoksik fraksi 3 setelah iradiasi terhadap sel leukemia L1210 (ulangan 1)

Dosis Iradiasi (kGy)	Konsentrasi (µg/ml)	Jumlah sel total (x 10 ⁵)			% Inhibisi	Log konsentrasi	Persamaan Regresi linier	IC ₅₀ (µg/ml)
		1	2	Rata2				
Kontrol	kontrol	110	105	107,5	-	-		
	2	90	90	90	16,28	0		
	4	75	65	70	34,88	0,30	$y = 1,58x + 4,06$	3,97
	8	50	55	52,5	51,16	0,60		
	16	40	35	37,5	65,12	0,90		
	32	20	15	17,5	83,72	1,20		
5	kontrol	115	100	107,5	-	-		
	2	100	95	97,5	9,30	0	$y = 1,48x + 3,71$	7,38
	4	90	90	90	16,28	0,30		
	8	70	65	67,5	37,21	0,60		
	16	40	45	42,5	60,47	0,90		
	32	20	20	20	81,40	1,20		
7,5	kontrol	110	105	107,5	-	-		
	2	95	105	100	6,9767	0	$y = 1,7473x + 3,51$	7,12
	4	90	90	90	16,2791	0,301		
	8	70	70	70	34,8837	0,6021		
	16	55	50	52,5	51,1628	0,9031		
	32	25	30	27,5	74,4186	1,2041		
10	kontrol	105	105	105	-	-		
	2	100	95	97,5	7,1429	0	$y = 1,69x + 3,44$	8,37
	4	95	90	92,5	11,9048	0,301		
	8	75	70	72,5	30,9524	0,6021		
	16	55	55	55	47,619	0,9031		
	32	35	30	32,5	69,0476	1,2041		
15	kontrol	110	105	107,5	-	-		
	2	105	100	102,5	4,65	0	$y = 1,93x + 3,26$	7,97
	4	100	95	97,5	9,30	0,30		
	8	80	75	77,5	27,91	0,60		
	16	50	45	47,5	55,81	0,90		
	32	30	35	32,5	69,77	1,20		
20	kontrol	105	110	107,5	-	-		
	2	105	105	105	2,33	0	$y = 2,36x + 2,91$	7,69
	4	105	100	102,5	4,65	0,30		
	8	70	75	72,5	32,56	0,60		
	16	50	40	45	58,14	0,90		
	32	30	30	30	72,09	1,20		

Tabel 8. Hasil uji aktivitas sitotoksik fraksi 3 setelah iradiasi terhadap sel leukemia L1210 (ulangan 2)

Dosis iradiasi (kGy)	Konsentrasi (µg/ml)	Jumlah sel total (x 10 ⁴)			% Inhibisi	Log konsentrasi	Persamaan Regresi linier	IC ₅₀ (µg/ml)
		1	2	Rata2				
Kontrol	kontrol	105	110	107,5	-	-	y = 1,88x + 3,69	4,96
	2	95	95	95	11,63	0		
	4	90	85	87,5	18,61	0,30		
	8	65	65	65	39,54	0,60		
	16	35	35	35	67,44	0,90		
	32	15	20	17,5	83,72	1,20		
5	kontrol	105	100	102,5	-	-	y = 1,89x + 3,56	5,81
	2	85	90	87,5	14,63	0,30		
	4	80	80	80	21,95	0,60		
	8	40	55	47,5	53,66	0,90		
	16	30	30	30	70,73	1,20		
	32	20	20	20	80,49	1,51		
7,5	kontrol	120	110	115	-	-	y = 1,31x + 3,87	7,24
	2	100	95	97,5	15,22	0		
	4	85	90	87,5	23,91	0,30		
	8	80	80	80	30,44	0,60		
	16	50	65	57,5	50,00	0,90		
	32	35	30	32,5	71,74	1,20		
10	kontrol	115	115	115	-	-	y = 1,71x + 3,46	7,87
	2	105	110	107,5	6,52	0		
	4	95	100	97,5	15,22	0,30		
	8	80	85	82,5	28,26	0,60		
	16	60	55	57,5	50,00	0,90		
	32	30	35	32,5	71,74	1,20		
15	kontrol	115	115	115	-	-	y = 1,25x + 3,48	16,45
	2	110	110	110	4,35	0		
	4	95	105	100	13,04	0,30		
	8	85	85	85	26,09	0,60		
	16	60	60	60	47,83	0,90		
	32	35	35	35	69,57	1,20		
20	kontrol	115	110	112,5	-	-	y = 2,23x + 2,83	9,46
	2	110	110	110	2,22	0		
	4	105	110	107,5	4,44	0,30		
	8	85	85	85	24,44	0,60		
	16	65	60	62,5	44,44	0,90		
	32	35	35	35	68,89	1,20		

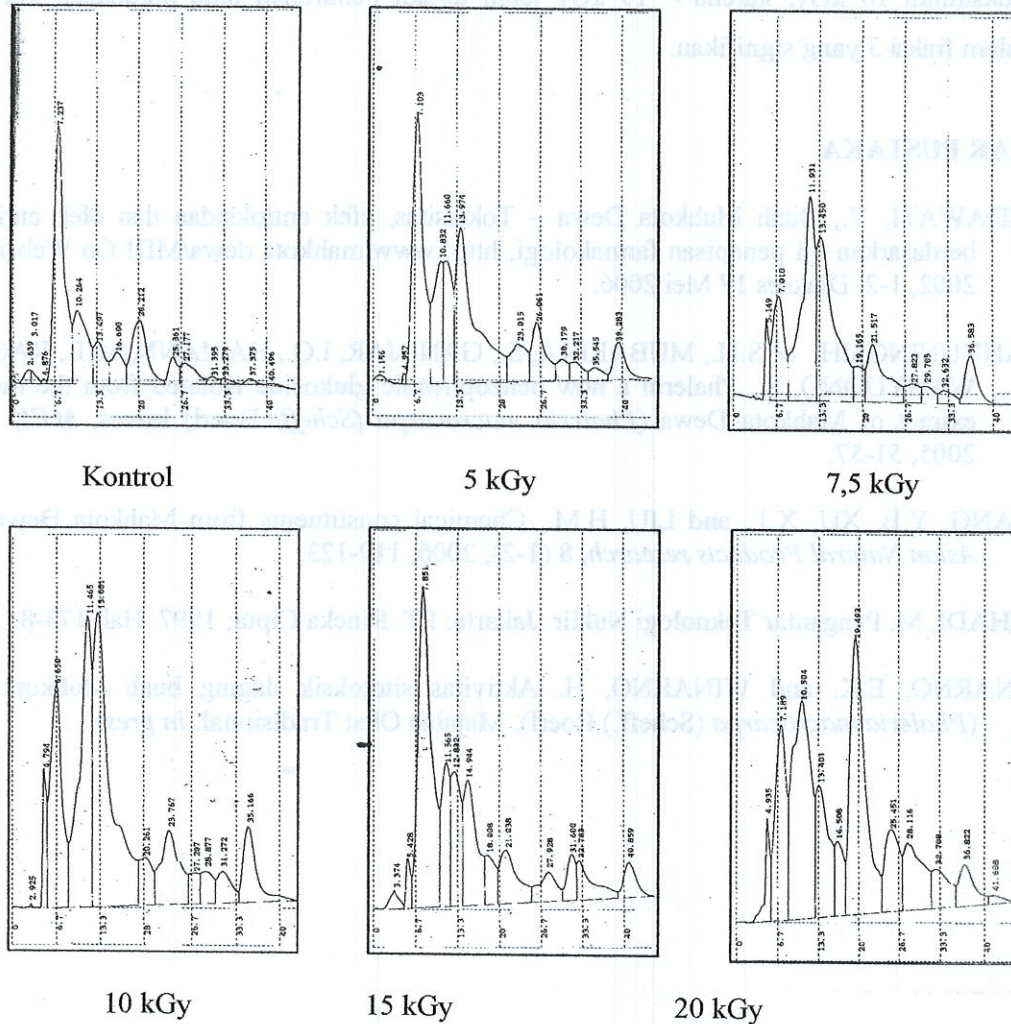
Tabel 9. Hasil uji aktivitas sitotoksik rata-rata dari Fraksi 3 daging buah mahkota dewa setelah iradiasi terhadap sel leukemia L1210

Dosis iradiasi (kGy)	IC ₅₀ (µg/ml)
Kontrol	4,46
5	6,59
7,5	7,18
10	8,12
15	8,23
20	8,58

Hasil rata-rata nilai IC₅₀ fraksi 3 dari simplisia tanpa dan dengan iradiasi ditampilkan pada Tabel 9. Perbedaan yang nyata mulai terlihat pada IC₅₀ fraksi 3 dari simplisia yang diiradiasi dengan dosis 10 kGy. Setelah perlakuan iradiasi sampai dosis 20 kGy terjadi penurunan aktivitas sitotoksik dari fraksi 3, namun fraksi 3 masih aktif sebagai inhibitor terhadap pertumbuhan sel leukemia L1210 (< 20 µg/ml).

Pemeriksaan profil kromatogram dengan KCKT. Hasil identifikasi fraksi 3 ekstrak etanol daging buah mahkota dewa dari berbagai dosis iradiasi menggunakan KCKT menunjukkan adanya 1 puncak utama kromatogram dengan waktu retensi 7,43 menit. Kromatogram KCKT fraksi 3 dari simplisia daging buah sebelum dan sesudah iradiasi diperlihatkan pada Gambar 2.

Fraksi 3 ekstrak etanol daging buah mahkota dewa setelah perlakuan iradiasi cenderung memperlihatkan penurunan luas puncak 1 yang tidak linier. Setelah iradiasi, kromatogram menunjukkan adanya beberapa komponen baru pada waktu retensi 14, 19, 25 dan 40 menit. Hal ini menunjukkan adanya pengaruh langsung radiasi pada materi akibat ionisasi suatu komponen dan efek tidak langsung akibat adanya radikal bebas yang berinteraksi dengan materi dan membentuk senyawa lain (16). Data ini didukung oleh pola KLT ekstrak etanol daging buah mahkota dewa, dengan tidak adanya beberapa komponen setelah iradiasi, namun ketidakberadaan komponen tersebut tidak mengurangi aktivitas daya hambat sampai dosis 10 kGy.



Gambar 2. Kromatogram hasil KCKT fraksi 3 dari ekstrak etanol daging buah Mahkota Dewa pada berbagai dosis iradiasi

KESIMPULAN

1. Ekstrak etil asetat kulit batang mahkota dewa yang telah diiradiasi dosis sampai 20 kGy masih dapat mempertahankan aktivitas sitotoksiknya terhadap pertumbuhan sel leukemia L1210 dengan nilai $IC_{50} < 50 \mu\text{g/ml}$, khususnya fraksi 6 yang mengandung senyawa marka (penanda) masih berfungsi aktif sebagai anti kanker. Namun dosis optimum untuk pengawetan simplisia kulit batang mahkota dewa disarankan maksimum 7,5 kGy, karena $> 7,5 \text{ kGy}$ telah terjadi penurunan atau perubahan komponen yang signifikan dalam fraksi 6.
2. Ekstrak etanol daging buah mahkota dewa yang telah diiradiasi dosis sampai 20 kGy masih dapat mempertahankan aktivitas sitotoksiknya terhadap pertumbuhan sel leukemia L1210 dengan nilai $IC_{50} < 50 \mu\text{g/ml}$, khususnya fraksi 3 masih berfungsi aktif sebagai anti kanker. Namun dosis optimum untuk pengawetan simplisia daging buah mahkota dewa disarankan

maksimum 10 kGy, karena > 10 kGy telah terjadi penurunan atau perubahan komponen dalam fraksi 3 yang signifikan.

DAFTAR PUSTAKA

1. LISDAWATI, V., Buah Mahkota Dewa – Toksisitas, efek antioksidan dan efek antikanker berdasarkan uji penapisan farmakologi, [http: www/mahkota_dewa/MDI Co Website.htm](http://www/mahkota_dewa/MDI_Co_Website.htm), 2002, 1-2. Diakses 17 Mei 2006.
2. WAHYUNINGSIH, M.S.H., MUBARIKA, S., GANDJAR, I.G., HAMANN, M.T., RAO, K.V., WAHYUONO, S., Phalerin a new benzophenoic glukoside isolated from the methanol extract of Mahkota Dewa (*Phaleria macrocarpa* (Scheff) Boerl) leaves, *MFI*, **16** (1), 2005, 51-57.
3. ZHANG, Y.B, XU, X.J., and LIU, H.M., Chemical constituents from Mahkota Dewa, *J. of Asian Natural Products research*, **8** (1-2), 2006, 119-123.
4. AKHADI, M. Pengantar Teknologi Nuklir. Jakarta: PT. Rineka Cipta; 1997. Hal. 173-8.
5. WINARNO, E.K. and WINARNO, H. Aktivitas sitotoksik daging buah Mahkota Dewa (*Phaleria macrocarpa* (Scheff.) Boerl). *Majalah Obat Tradisional*. *In press*