

ISBN 978-979-3558-23-3

**PROSIDING SEMINAR ILMIAH HASIL
PENELITIAN TAHUN 2009**

APLIKASI ISOTOP DAN RADIASI

Jakarta, 02 Desember 2010



**BADAN TENAGA NUKLIR NASIONAL
PUSAT APLIKASI TEKNOLOGI ISOTOP DAN RADIASI
JAKARTA 2011**

- ISBN 978-979-3558-23-3
- Penyunting :
1. Prof. Dr. Ir. Mugiono - PATIR-BATAN
 2. Prof. Ir. Sugiarto - PATIR-BATAN
 3. Prof. Ir. A. Nasroh Kuswadi, M.Sc - PATIR-BATAN
 4. Dra. Rahayuningsih Chosdu, MM - PATIR-BATAN
 5. Dr. Paston Sidauruk - PATIR-BATAN
 6. Dr. Hendig Winarno, M.Sc. - PATIR-BATAN
 7. Dr. Ir. Sobrizal - PATIR-BATAN
 8. Ir. Suharyono, M.Rur.Sci - PATIR-BATAN
 9. Prof. Dr. Ir. Abd. Latief Toleng - UNHAS
 10. Dr. Nelly Dhevita Leswara - UI
- APLIKASI ISOTOP DAN RADIASI
Jakarta 02 Desember 2010

SEMINAR ILMIAH HASIL PENELITIAN APLIKASI ISOTOP DAN RADIASI (2009 : JAKARTA), Prosiding seminar ilmiah hasil penelitian aplikasi isotop dan radiasi, Jakarta, 2 Desember 2010 / Penyunting, Mugiono ... (*et al.*) -- Jakarta : Pusat Aplikasi Teknologi Isotop dan Radiasi, 2011.

i, 451 hal.; ill.; tab.; 30 cm

ISBN 978-979-3558-23-3

1. Isotop - Seminar I. Judul II. Badan Tenaga Nuklir Nasional III. Mugiono

541.388

Alamat : Pusat Aplikasi Teknologi Isotop dan Radiasi
Jl. Lebak Bulus Raya No. 49
Kotak Pos 7002 JKSKL
Jakarta 12440
Telp. : 021-7690709
Fax. : 021-7691607
021-7513270
E-mail : patir@batan.go.id
sroji@batan.go.id
Home page : <http://www.batan.go.id/patir>

BADAN TENAGA NUKLIR NASIONAL
PUSAT APLIKASI TEKNOLOGI ISOTOP DAN RADIASI
JAKARTA

KATA PENGANTAR

Puji syukur kami panjatkan kehadiran Tuhan Yang Maha Esa dimana atas berkat dan rahmat Nyalah maka Prosiding Seminar Ilmiah Hasil Penelitian Aplikasi Isotop dan Radiasi tahun 2009 Pusat Aplikasi Teknologi Isotop dan Radiasi, Badan Tenaga Nuklir Nasional dapat diselesaikan.

Pada kesempatan ini perkenankanlah kami menginformasikan kepada masyarakat tentang hasil kegiatan penelitian PATIR-BATAN berupa buku "Prosiding Seminar Ilmiah Hasil Penelitian Aplikasi Isotop dan Radiasi, tahun 2009", Pusat Aplikasi Teknologi Isotop dan Radiasi, Badan Tanaga Nuklir Nasional (2011).

Penyusun menyampaikan permintaan maaf apabila pada penerbitan ini, masih banyak hal yang kurang sempurna, untuk itu kami sangat mengharapkan saran perbaikan. Tidak lupa pula penyusun juga menyampaikan terima kasih kepada para penulis dan semua pihak yang telah membantu dalam persiapan maupun pelaksanaan penerbitan buku Prosiding tersebut.

Jakarta, 7 Februari 2011

Penyusun,

DAFTAR ISI

Pengantar..... i
Daftar Isi iii

Bidang Pertanian

Pemuliaan tanaman padi untuk mendapatkan varietas unggul nasional dan hibrida; observasi dan uji daya hasil pendahuluan galur mutan asal iradiasi ki 237 dan ki 432
SOBRIZAL, CARKUM, NANA SUPRIATNA, YULIDAR,
WINDA PUSPITASARI..... 1

Uji daya hasil dan respon terhadap serangan jamur *aspergillus flavus* pada galur mutan kacang tanah
PARNO DAN SIHONO 7

Uji adaptasi, uji ketahanan terhadap penyakit dan hama penting serta analisis nutrisi galur-galur mutan harapan kedelai umur sedang dan genjah berukuran biji besar
HARRY IS MULYANA, ARWIN, TARMIZI DAN MASRIZAL 13

Pemurnian dan pendeskripsian sifat agronomi mutan padi rendah kandungan asam fitat
ARWIN, AZRI KUSUMA DEWI, YULIDAR DAN
WINDA PUSPITASARI..... 29

Perbaikan genetik tanaman kacang hijau toleran cekaman abiotik (kekeringan) dan biotik melalui teknik mutasi dan bioteknologi
YULIASTI, SIHONO DAN SISWOYO 37

Pembentukan populasi dasar padi hitam dengan teknik mutasi
SHERLY RAHAYU, MUGIONO, HAMBALI, DAN YULIDAR 45

Peningkatan keragaman genetik bawang merah (*allium ascalonicum* l.) melalui pemuliaan mutasi
ISMİYATI SUTARTO DAN MARINA YUNIAWATI 53

Perbaikan sifat tanaman obat *artemisia cina* dengan sinar gamma
ARYANTI, ULFA TAMIN DAN MARINA YUNIAWATI 61

Observasi galur mutan tanaman jarak pagar (*jatropha curcas* l.) generasi m1v5 pada tahun ketiga
ITA DWIMAHYANI , SASANTI WIDIARSIH, WINDA PUSPITASARI
DAN YULIDAR 67

Observasi, seleksi dan uji daya hasil lanjut galur mutan tanaman kapas (<i>Gossypium hirsutum</i> .L) dengan teknik mutasi LILIK HARSANTI, ITA DWIMAHYANI, TARMIZI, SISWOYO DAN HAMDANI	75
Perbaikan varietas padi sawah dengan teknik mutasi MUGIONO, SHERLY RAHAYU, HAMALI, YULIDAR	85
Pengujian ketahanan galur-galur mutan sorgum terhadap lahan masam SOERANTO HUMAN, SIHONO, PARNO DAN TARMIZI.....	93
Perbaikan varietas padi lokal dan padi gogodengan teknik pemuliaan mutasi : uji daya hasil, serta seleksi galur mutan padi lokal dan padi gogo AZRI KUSUMA DEWI, MUGIONO, HAMBALI, YULIDAR DAN SUTISNA.....	103
Optimalisasi pemupukan padi sawah hasil litbang batan dengan teknik nuklir HARYANTO	115
Budidaya padi sawah dengan sistem sri dan bahan organik pupuk kandang SETIYO HADI WALUYO	125
Produksi Azofert (Reformulasi Azora) ANIA CITRARESMINI, SRI HARTI S., HALIMAH, ANASTASIA D.....	135
Penghematan pupuk dalam sistem pergiliran tanaman di lahan kering/ tadah hujan IDAWATI DAN HARYANTO.....	143
Uji terap dan uji toksisitas formulasi penglepasan terkendali (fpt) insektisida dimehipo terhadap serangga yang diinokulasikan pada tanaman padi SOFNIE M.CHAIRUL, HENDARSIH, DAN A.N. KUSWADI.....	153
Uji virulensi isolat <i>beauveria bassiana</i> (balsamo) vuill. (deuteromycotina: hyphomycetes) terhadap hama sayuran (lanjutan) MURNI INDARWATMI, A.N. KUSWADI, DAN INDAH A. NASUTION....	165
Perbaikan kualitas lalat buah <i>bactrocera carambolae</i> (drew & hancock) (diptera = tephritidae) mandul untuk pengendalian dengan teknik serangga mandul INDAH ARASTUTI NASUTION, MURNI INDARWATMI DAN A. NASROH KUSWADI.....	173
Uji kandungan nutrisi sorgum fermentasi untuk mengetahui kemampuannya sebagai pakan ruminansia secara <i>in vitro</i> LYDIA ANDINI, W. TEGUH S., DAN EDY IRAWAN K.....	181

Inovasi pakan komplit terhadap fermentasi rumen, pencernaan dan penambahan berat badan pada ternak domba
SUHARYONO, C. E. KUSUMANINGRUM, T. WAHYONO DAN
D. ANSORI 189

Budidaya ikan air tawar yang diberi pakan stimulan dengan pemanfaatan teknik nuklir.
ADRIA PM 195

Daun *tithonia diversifolia*, sebagai penyusun pakan komplit ternak Ruminansia Secara *In-Vitro*
FIRSONI 201

Respon imun *brucella abortus* untuk pengembangan vaksin iradiasi brucellosis
BOKY JEANNE TUASIKAL, TRI HANDAYANI,
TOTTI TJIPTOSUMIRAT 209

Uji lapang terbatas bahan vaksin fasciolosis untuk ternak ruminansia
TRI HANDAYANI, BOKY JEANNE TUASIKAL, T. TJIPTOSUMIRAT 219

Bidang Proses Radiasi

Uji coba produksi tulang xenograf radiasi untuk pemakaian periodontal
BASRIL ABBAS 229

Sintesis dan kharakterisasi *injectable* komposit hidroksiapatit –pvp-kitosan dengan iradiasi berkas elektron sebagai graft tulang sintetik
DARMAWAN DARWIS, LELY H., YESSY WARASTUTI DAN
FARAH NURLIDAR 239

Sintesis iradiasi komposit tricalcium fosfat (tcp)- kitosan untuk graft tulang dan karakterisasi sifat fisiko-kimianya
ERIZAL, A.SUDRAJAT, DEWI S.P. 245

Metode rt-pcr (*reverse transcription-polymerase chain reaction*) dan hibridisasi dot blot dengan pelacak berlabel ³²p untuk deteksi hcv (*hepatitis c virus*).
LINA, M.R 253

Uji praklinis simplisia mahkota dewa (*phaleria macrocarpa* (scheff) boerl.) radiopasteurisasi sebagai antidiabetes pada tikus
NIKHAM DAN RAHAYUNINGSIH CHOSDU 261

Pengaruh radiopasteurisasi pada simplisia kulit batang mahkota dewa (<i>phaleria macrocarpa (scheff) boerl.</i>) terhadap aktivitas anti kanker (lanjutan) ERMIN KATRIN, SUSANTO DAN HENDIG WINARNO	269
Pembuatan membran elektrolit dengan teknologi proses radiasi untuk direct methanol fuel cell (dmfc) AMBYAH SULIWARNO	279
Formulasi peningkat indeks viskositas minyak lumas sintetis MERI SUHARTINI, RAHMAWATI, I MADE SUMARTI KARDHA HER WINARNI, DEVI LISTINA P	287
Tinjauan membran serat berongga polisulfon untuk hemodialisis KRISNA LUMBAN RAJA, DEWI SEKAR P, NUNUNG, DAN OKTAVIANI	297
Degradasi lignoselulosa serbuk kayu menggunakan radiasi berkas elektron SUGIARTO DANU, DARSONO, MADE SUMARTI KARDHA, DAN MARSONGKO	313
Efektivitas khitosan iradiasi sebagai bahan pengawet makanan GATOT TRIMULYADI REKSO	321
Pengaruh ekstrak rendang iradiasi dosis tinggi terhadap kapasitas antioksidan, proliferasi limfosit dan hemolisis eritrosit manusia ZUBAIDAH IRAWATI ¹ , KAMALITA PERTIWI ² , DAN FRANSISKA RUNGKAT-ZAKARIA ²	329
Cemaran awal dan dekontaminasi bakteri patogen pada sayuran hidroponik dengan iradiasi gamma. HARSOJO.....	341
Aplikasi teknik radiasi dalam penanganan jamur kering IDRUS KADIR DAN HARSOJO	349
Bidang Kebumihan dan Lingkungan	
Teknik nuklir untuk penelitian reservoir dan aliran dua fasa pada lapangan panasbumi lahendong, sulawesi utara DJIJONO, ABIDIN, ALIP, RASI P.	363
Aplikasi dan pengembangan teknologi isotop dan radiasi dalam pengelolaan sumberdaya air di banten DJIONO, ABIDIN, PASTON, SATRIO, BUNGKUS P, RASI P	377

Formulasi konsentrat pupuk organik hayati berbasiskompos radiasi NANA MULYANA, DADANG SUDRAJAT, ENDRAWANTO WIDAYAT,	401
Pengembangan metode pengujian toxin paralytic shellfish poisoning sebagai saxitoxin dengan teknik nuklir WINARTI ANDAYANI , AGUSTIN SUMARTONO DAN BOKY JEANNE TUASIKAL.....	413
Instrumental analisis pengaktifan neutron (inaa) sedimen pesisir pltu suralaya; identifikasi polutan ALI ARMAN, YULIZON MENRY, SURIPTO, DARMAN DAN HARIYONO	421
Studi interkoneksi sungai bawah tanah di bribin – baron, di daerah karst gunung kidul WIBAGIYO, PASTON S. SATRIO.....	431
Studi kinetika karakterisasi biodegradasi bahan organik dari bagase tebu dan limbah nanas TRI RETNO D.L, DADANG SUDRAJAT, NANA MULYANA DAN ARIF ADHARI	441

PENGARUH RADIOPASTEURISASI PADA SIMPLISIA KULIT BATANG MAHKOTA DEWA (*PHALERIA MACROCARPA* (SCHEFF) BOERL.) TERHADAP AKTIVITAS ANTI KANKER (Lanjutan)

Ermin Katrin, Susanto 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 KULIT BATANG MAHKOTA DEWA (*Phaleria macrocarpa* (Scheff) Boerl.) TERHADAP AKTIVITAS ANTI KANKER. Telah dilakukan iradiasi dosis 7,5 kGy simplisia kulit batang mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa* (Scheff) Boerl.). Tujuan penelitian ini untuk mempelajari pengaruh iradiasi gamma terhadap aktivitas antikanker simplisia kulit batang mahkota dewa. Simplisia kontrol dan yang diiradiasi dengan dosis 7,5 kGy dimaserasi dengan *n*-heksan, lalu dilanjutkan dengan maserasi menggunakan etil asetat. Filtrat etil asetat dipekatkan, ditimbang dan diuji aktivitas daya hambatnya terhadap pertumbuhan sel leukemia L1210 memberikan nilai IC₅₀ 11,95 µg/ml (kontrol) dan 20,69 µg/ml (simplisia yang diiradiasi 7,5 kGy). Ekstrak etil asetat kontrol dan simplisia iradiasi difraksinasi menggunakan kromatografi kolom terbuka sehingga diperoleh 8 fraksi. Fraksi 6 merupakan fraksi paling aktif berpotensi sebagai antikanker. Hasil uji daya hambat fraksi 6 terhadap pertumbuhan sel leukemia L1210 memberikan nilai IC₅₀ 7,86 µg/ml (kontrol) dan 17,07 µg/ml (sampel iradiasi). Antiproliferasi fraksi 6 kontrol terhadap 4 jenis sel kanker lestari HeLa, THP-1, HUT-78 dan A-549 memberikan nilai IC₅₀ berturut-turut 3,65; 5,59; 3,55; dan 4,06 µg/ml. Fraksi 6 dari simplisia iradiasi memberikan nilai IC₅₀ terhadap 4 jenis sel kanker 8,26; 7,02; 5,03; dan 5,59 µg/ml. Iradiasi gamma sebesar 7,5 kGy pada simplisia kulit batang mahkota dewa menurunkan nilai IC₅₀ fraksi 6, namun masih dalam batas aktif sebagai antikanker. Hasil maserasi 900 g kulit batang mahkota dewa tanpa radiasi dengan etanol diperoleh ekstrak seberat 42 g (4,7%).

Kata kunci : antikanker, kulit batang, mahkota dewa, *Phaleria macrocarpa* (Scheff) Boerl., radiopasteurisasi

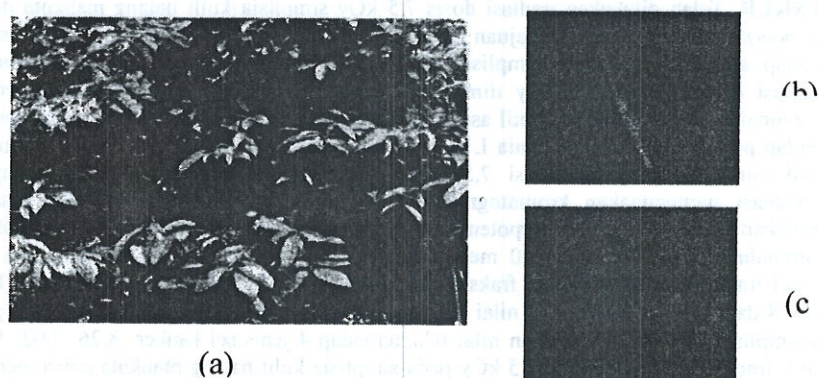
ABSTRACT

THE EFFECTS OF RADIOPASTEURIZATION ON MAHKOTA DEWA BARK (*Phaleria macrocarpa* (Scheff) Boerl.) AGAINST ANTICANCER ACTIVITIES. It was carried out irradiation on mahkota dewa bark (*Phaleria macrocarpa* (Scheff) Boerl.) at dose 7.5 kGy. The purpose of this research was to study the effects on anticancer activities of mahkota dewa bark. Control and irradiated samples were macerated with *n*-hexane, and then macerated in ethyl acetate. Ethyl acetate filtrate were saturated, weighed and assayed their inhibition activities against leukemia L1210 cell growth, the results were gave the IC₅₀ value 11.95 µg/ml (control) and 20.69 µg/ml (irradiated samples). Ethyl acetate extract of control and irradiated samples were fractionated using open column chromatography and given 8 fraction.. Fraction 6 was the most active fraction as anticancer. The result of inhibition activities of the fraction 6 against leukemia L1210 cell growth gave IC₅₀ value 7.86 µg/ml (control) and 17.07 µg/ml (7.5 kGy). The antiproliferation of control's fraction 6 against 4 kinds of lestari cancer cell HeLa, THP-1, HUT-78 and A-549 gave IC₅₀ value berturut-turut 3.65; 5.59; 3.55; and 4.06 µg/ml. The fraction 6 of irradiated samples gave IC₅₀ value against 4 kinds of cancer cells 8.26; 7.02; 5.03; and 5.59 µg/ml. Gamma Irradiation 7.5 kGy on mahkota dewa bark decreased IC₅₀ value of fraction 6, but they were still active as anticancer agents. The maceration result of 900 g mahkota dewa bark without radiation using ethanol was obtained 42 g extract (4.7%).

Keywords : anticancer, bark, mahkota dewa, *Phaleria macrocarpa* (Scheff) Boerl., radiopasteurization

PENDAHULUAN

Tanaman obat yang berjumlah lebih kurang 30.000 spesies merupakan warisan kekayaan flora Indonesia yang sangat banyak manfaatnya. Salah satu tanaman obat yang multi guna adalah mahkota dewa *Phaleria macrocarpa* (Scheff) Boerl. (Gambar 1). Batangnya secara bisa mengobati kanker tulang (1). Daun dan buahnya digunakan untuk mengobati penyakit kulit, gatal-gatal, eksim, diabetes sampai kanker. Buah berkhasiat sebagai antioksidan dan antikanker (2). Daunnya bisa menyembuhkan lemah syahwat, disentri, alergi, dan tumor. Cangkang buah berkhasiat untuk mengobati penyakit kanker payudara, kanker rahim, sakit paru-paru, dan sirosis hati.



Gambar 1. a. Tanaman mahkota Dewa, b. kulit batang dan c. Serbuk kulit batang

Beberapa tahun terakhir telah banyak dilakukan penelitian untuk mengetahui kandungan senyawa dalam mahkota dewa. Zhang dkk. Melaporkan bahwa buah mahkota dewa mengandung 1 senyawa fenol baru yaitu 4,4'-dihidroksi-2-metoksibenzo-fenon-6-O- β -D-glukopiranosida (mahkosida A), mangiferin, kaemferol-3-O- β -D-glukosida, asam dodekanoat, asam palmitat, etil stearat dan sukrosa (3). Oshimi telah melaporkan bahwa buah mahkota dewa mengandung phalerin (2,4', 6-trihidroksi-4-metoksibenzofenon-2-O- β -D-glukosida) (4). Hartati dkk juga telah menemukan senyawa phalerin dalam daun mahkota dewa (5). Ekstrak etil asetat kulit batang mahkota dewa aktif menghambat pertumbuhan sel leukemia L1210 (IC_{50} 11,9 μ g/ml) dan mengandung senyawa 2,4', 6-trihidroksi-4-metoksibenzofenon-2-O- β -D-glukosida (6,7,8)

Simplisia kering mudah mengalami kerusakan selama penyimpanan karena tercemar mikroba, sehingga dapat menurunkan khasiat atau mutu dari bahan baku tersebut. Teknologi radiasi dengan dosis 10 kGy dapat menurunkan angka kuman pada

simplisia daging buah mahkota dewa dari 10^{10} koloni/gram (9,10) menjadi 10^5 koloni/gram, hal ini memenuhi syarat baku mutu menurut Badan Pengawas Obat dan Makanan (BPOM) (11). Iradiasi gamma untuk memperpanjang daya simpan dengan mutu simplisia yang terjamin. Teknik radiasi gamma ini mempunyai beberapa keuntungan diantaranya daya tembus tinggi, diproses pada suhu kamar, tidak meninggalkan residu, ramah lingkungan dan produk akhir dalam kemasan (12).

Pengaruh iradiasi gamma terhadap khasiat simplisia bahan obat belum banyak diteliti. Pada penelitian ini akan dipelajari pengaruh iradiasi gamma terhadap aktivitas sitotoksik simplisia kulit batang mahkota dewa *Phaleria macrocarpa* (Scheff.) Boerl. Pada dosis 7,5 kGy diharapkan aktivitas fraksi 6 kulit batang mahkota dewa tidak mengalami perubahan.

BAHAN DAN METODE

Bahan dan Alat

Bahan. Simplisia kering yang digunakan pada penelitian ini adalah rajangan kulit batang 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 *n*-heksan, etil asetat, metanol, sel leukemia L1210, *RPMI Medium-1640*, *Dulbecco's modified Eagle's medium* (DMEM/F-12), *Fetal Bovine Serum* (FBS), dan biru tripan 0,4 %.

Alat. Penguap putar, desikator vakum, neraca analitik, kolom kromatografi, inkubator CO₂, *Multiwell plate tissue's culture* 24 sumuran, mikroskop, *haemocytometer Neubauer improved*, dan alat-alat gelas.

Metode

Iradiasi. Rajangan simplisia kering kulit batang mahkota dewa [*Phaleria Macrocarpa* (Scheff) Boerl.] disiapkan dalam 2 kemasan yang masing-masing beratnya 100 g untuk kontrol dan sampel iradiasi. Masing-masing sampel dimasukkan ke dalam kantong polietilen lalu diséal rapat dengan *seal*. Sampel diiradiasi menggunakan sumber radiasi ⁶⁰Co dengan dosis 7,5 kGy pada laju dosis 10 kGy/jam.

Pembuatan Ekstrak. Sejumlah kurang lebih 100 g simplisia kulit batang mahkota dewa (kontrol dan yang diiradiasi) dimaserasi 3 kali dengan pelarut *n*-heksan masing-masing 700 ml, kemudian residunya dimaserasi kembali dengan pelarut etil asetat

sebanyak 3 x masing-masing 700 ml. Masing-masing filtrat *n*-heksan dan etil asetat selanjutnya dipekatkan menggunakan rotavapor pada suhu kurang lebih 40 °C hingga diperoleh ekstrak kental. Ekstrak selanjutnya dikeringkan menggunakan desikator vakum hingga semua pelarut menguap, lalu ditimbang. Ekstrak etanol kulit batang juga dipersiapkan untuk uji toksisitas terhadap mencit, 900 g kulit batang kering dimaserasi dalam pelarut etanol. Maserat disaring dengan kertas saring, lalu dipekatkan dengan rotavapor dan residu yang diperoleh dikeringkan dan ditimbang.

Fraksinasi Ekstrak Etil Asetat dengan Kromatografi Kolom. Ekstrak etil asetat difraksinasi menggunakan kromatografi kolom dengan adsorben silika gel 60 ukuran 70-230 mesh. Ekstrak etil asetat sebanyak 1 g yang telah dihomogenkan dengan *celite* 545 (6,5 g) dimasukkan ke dalam kolom. Eluen yang sesuai dituang sedikit demi sedikit ke dalam kolom. Pemisahan dilakukan dengan pengelusi sistem landaian (*gradien*) *n*-heksan-etil asetat-metanol dari perbandingan 3:1:0 hingga 0:0:1. Hasil pemisahan setiap fraksi kurang lebih 150 ml, diperoleh 8 fraksi, kemudian setiap fraksi dipekatkan, dikeringkan dan ditimbang.

Uji aktivitas sitotoksik terhadap Sel Leukemia L1210 (6). Pengujian aktivitas dilakukan pada ekstrak etil asetat dan fraksi 6 yang diperoleh dari hasil fraksinasi. Pengujian aktivitas pada ekstrak dilakukan dengan variasi konsentrasi ekstrak 5, 10, 20, 40, dan 80 µg/ml medium yang mengandung 1 ml suspensi sel leukemia L1210 yang dimasukkan ke dalam *multi well plate tissue's culture*. Pengujian aktivitas fraksi 6 dengan variasi konsentrasi 2, 4, 8, 16, dan 32 µg/ml. Sebagai kontrol negatif digunakan 10 µl metanol yang telah ditambahkan 1 ml suspensi sel. Percobaan dilakukan secara duplo, selanjutnya suspensi sel yang telah diisi zat uji diinkubasi pada suhu 37 °C dalam inkubator 5 % CO₂ 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 dan tampak transparan, sedang sel yang mati berwarna biru. Aktivitas sitotoksik yang dinyatakan dalam persentase inhibisi dihitung terhadap total jumlah sel leukemia L1210.

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

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

- 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 selanjutnya diplotkan ke tabel probit untuk memperoleh nilai probit, kemudian 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).

Uji aktivitas sitotoksik terhadap sel kanker manusia secara in vitro. Uji aktivitas sitotoksik pada sel kanker manusia (HeLa, THP-1, HUT-78 and A-549) dilakukan terhadap fraksi 6 dari simplisia kontrol dan yang diradiasi 7,5 kGy. Masing-masing sampel dibuat dengan 6 macam konsentrasi, yaitu 0 (kontrol), 2, 4, 8,16, dan 32 $\mu\text{g/ml}$, dengan ulangan tiga kali. Sebagai kontrol positif digunakan doksorubisin dengan konsentrasi 6 $\mu\text{g/ml}$. Masing-masing konsentrasi ditempatkan dalam *multiwell plate tissue's culture* 24 sumuran yang berisi 1 ml suspensi sel (mengandung 2×10^6 sel) dalam medium, kemudian diinkubasi dalam inkubator CO_2 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. Selanjutnya dihitung persentase aktivitas antiproliferasi dan nilai IC_{50} yaitu konsentrasi yang menyebabkan pertumbuhan sel terhambat sebesar 50% dengan cara yang sama seperti pada perhitungan terhadap sel L1210.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pembuatan Ekstrak dan Fraksinasi dengan Kolom Kromatografi. Hasil maserasi dan pemekatan ekstrak etil asetat dari simplisia kontrol dan yang diradiasi memberikan residu masing-masing seberat 2 gram. Masing-masing ekstrak sampel kontrol dan yang diradiasi difraksinasi melalui kolom kromatografi. Fraksi 6 merupakan fraksi

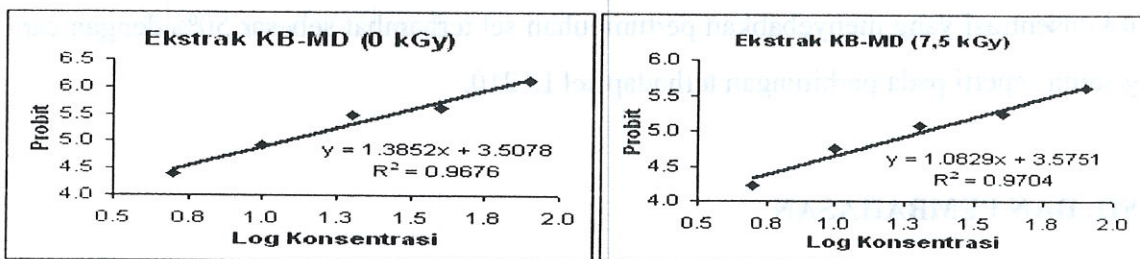
Tabel. 1. Hasil fraksinasi ekstrak etil asetat kulit batang mahkota dewa (1 g)

Fraksi	Warna	Rendemen (%)
1	Hijau kehitaman	3,1
2	Hijau kehitaman	2,7
3	Hijau kehitaman	2,9
4	Hijau kehitaman	3,3
5	Hijau kehitaman	5,6
6	Hijau tua kehitaman	52,1
7	Coklat tua	18,3
8	Coklat tua	10,2

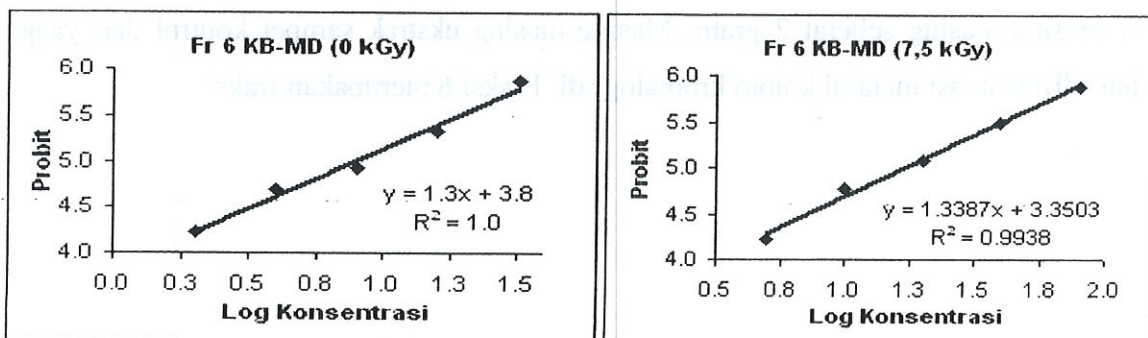
paling banyak sebanyak 52,1%. Berdasarkan hasil penelitian sebelumnya bahwa fraksi 6 merupakan fraksi yang paling aktif berpotensi sebagai antikanker (6).

Uji Aktivitas Sitotoksik Ekstrak Etil Asetat. Grafik probit vs log konsentrasi hasil uji aktivitas sitotoksik ekstrak etil asetat dan fraksi 6 terhadap pertumbuhan sel leukemia L1210 disajikan pada Gambar 2 dan 3. Nilai IC_{50} ekstrak etil asetat kulit batang kontrol dan iradiasi 7,5 kGy, masing-masing 11,95 dan 20,69 $\mu\text{g/ml}$. Nilai IC_{50} fraksi 6 kulit batang kontrol dan iradiasi 7,5 kGy, masing-masing 7,86 dan 17,07 $\mu\text{g/ml}$. Nilai IC_{50} ekstrak etil asetat dan fraksi 6 setelah iradiasi 7,5 kGy menunjukkan nilai IC_{50} masih dalam batas aktif sebagai antikanker $\leq 50 \mu\text{g/ml}$ (13).

Uji Aktivitas Sitotoksik Fraksi 6. Hasil uji aktivitas antikanker fraksi 6 (kulit batang

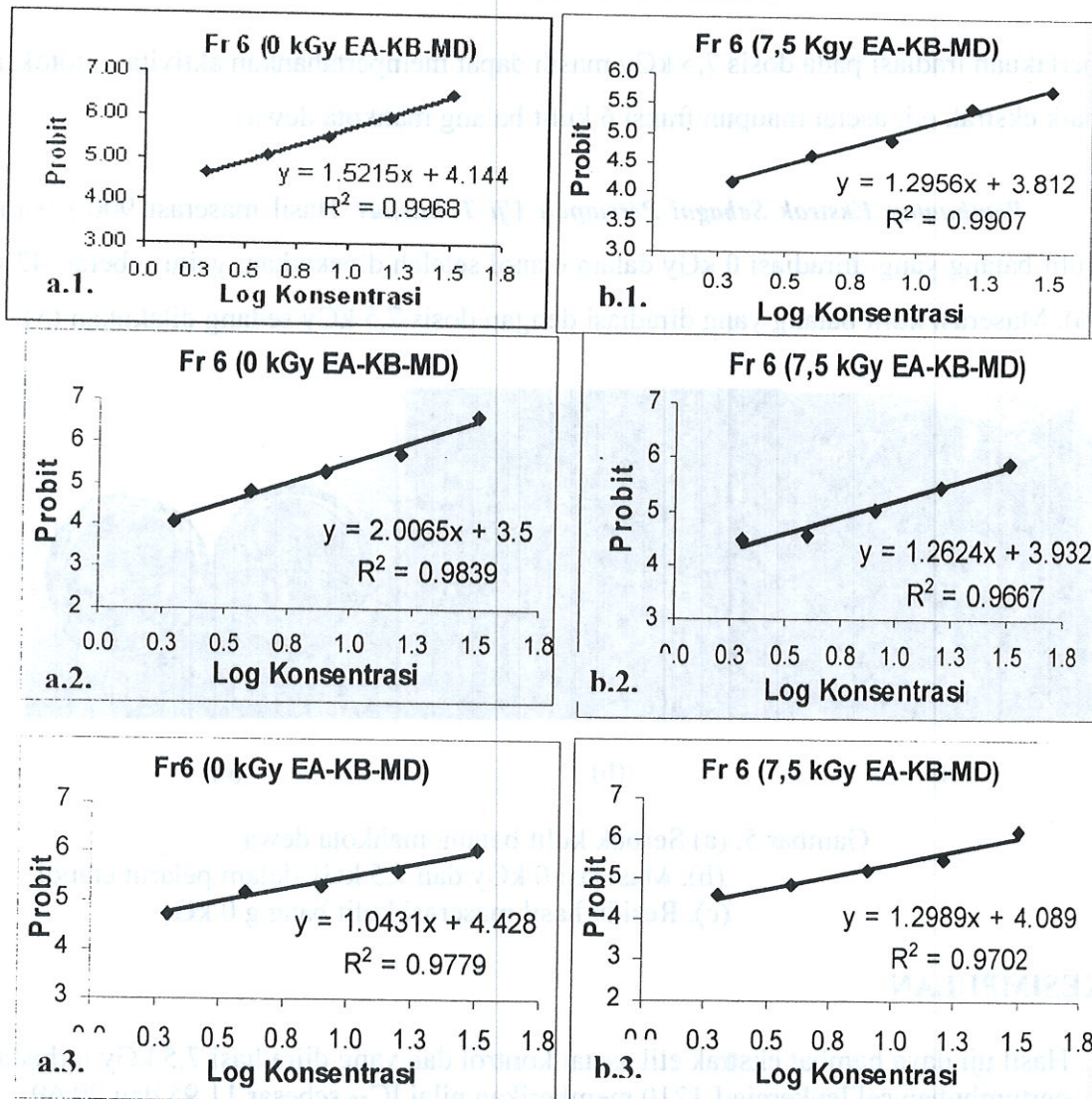


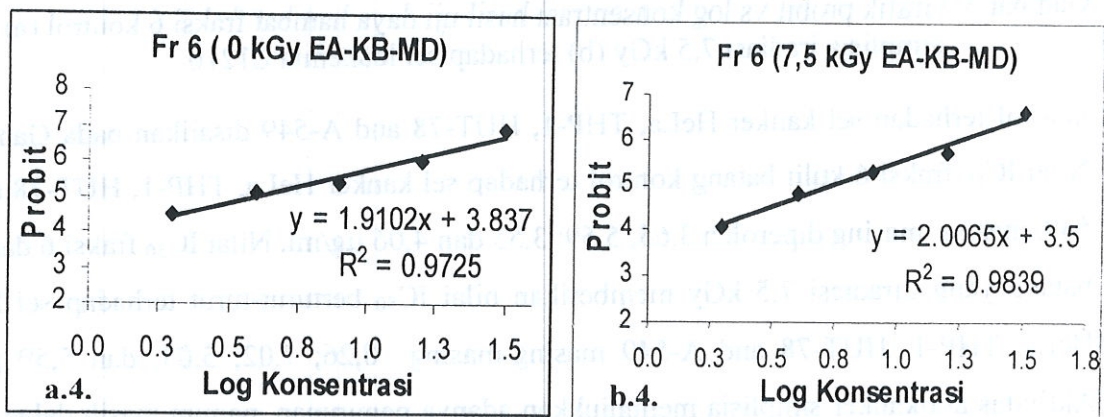
Gambar 2. Grafik probit vs log konsentrasi hasil uji daya hambat ekstrak kontrol (a) dan simplisia iradiasi 7,5 kGy (b)



Gambar 3. Grafik probit vs log konsentrasi hasil uji daya hambat fraksi 6 kontrol (a) dan simplisia iradiasi 7,5 kGy (b) terhadap sel leukemia L1210

kontrol terhadap sel kanker HeLa, THP-1, HUT-78 and A-549 disajikan pada Gambar 4. Nilai IC_{50} fraksi 6 kulit batang kontrol terhadap sel kanker HeLa, THP-1, HUT-78 and A-549. masing-masing diperoleh 3,65; 5,59; 3,55 dan 4,06 $\mu\text{g/ml}$. Nilai IC_{50} fraksi 6 dari kulit batang yang diradiasi 7,5 kGy memberikan nilai IC_{50} berturut-turut terhadap sel kanker HeLa, THP-1, HUT-78 and A-549 masing-masing 8,26; 7,02; 5,03; dan 5,59 $\mu\text{g/ml}$. Aktivitas antikanker simplisia menunjukkan adanya penurunan, namun masih dalam batas aktif sebagai antikanker $\leq 50 \mu\text{g/ml}$. Menurut MANS (13), ekstrak dinyatakan memiliki aktivitas sitotoksik apabila nilai $IC_{50} \leq 50 \mu\text{g/ml}$. Dengan demikian



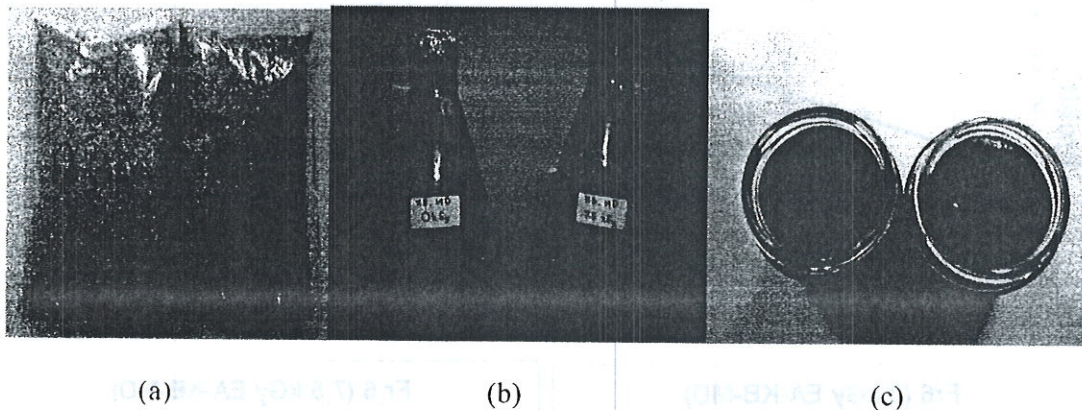


Gambar 4. Grafik probit vs log konsentrasi hasil uji daya hambat fraksi 6 kontrol (a) dan simplisia iradiasi 7,5 kGy (b) terhadap sel kanker :

1. HeLa, 2. THP-1, 3. HUT-78 dan 4. A-549

perlakuan iradiasi pada dosis 7,5 kGy masih dapat mempertahankan aktivitas sitotoksik baik ekstrak etil asetat maupun fraksi 6 kulit batang mahkota dewa.

Pembuatan Ekstrak Sebagai Persiapan Uji Toksisitas. Hasil maserasi 900 g simplisia kulit batang yang diiradiasi 0 kGy dalam etanol setelah dipekatkan, yaitu seberat 42 g (4,7 %). Maserasi kulit batang yang diiradiasi dengan dosis 7,5 kGy sedang dilakukan (5).



Gambar 5. (a) Serbuk kulit batang mahkota dewa
(b). Maserasi 0 kGy dan 7,5 kGy dalam pelarut etanol
(c). Residu hasil maserasi kulit batang 0 kGy

KESIMPULAN

1. Hasil uji daya hambat ekstrak etil asetat kontrol dan yang diiradiasi 7,5 kGy terhadap pertumbuhan sel leukemia L1210 memberikan nilai IC_{50} sebesar 11,95 dan 20,69 mg/ml, fraksi 6 dari simplisia kontrol dan yang diiradiasi masing-masing 7,86 dan 17,07 mg/ml.

2. Hasil uji daya hambat fraksi 6 dari simplisia kulit batang kontrol dan yang diiradiasi terhadap 4 jenis sel kanker menunjukkan nilai $IC_{50} < 10 \mu\text{g/ml}$.
3. Iradiasi gamma sebesar 7,5 kGy tidak merusak aktivitas simplisia kulit batang mahkota dewa sebagai antikanker.
4. Hasil maserasi 900 g simplisia kulit batang yang diiradiasi 0 kGy dalam etanol setelah dipekatkan, yaitu seberat 42 g (4,7 %). Maserasi kulit batang yang diradiasi dengan dosis 7,5 kGy sedang dilakukan.

DAFTAR PUSTAKA

1. Harmanto, N., Mahkota dewa "obat pusaka para dewa", Jakarta, Gramedia Pustaka, 2006, 9-12.
2. Lisdawati V. Buah mahkota dewa-toksisitas, efek antioksidan dan efek antikanker berdasarkan uji penapisan farmakologi. 2002; [3 tayangan]. Diambil dari: <http://www.mahkotadewa.com/indi/info/makalah/vivi201002.htm>. Diakses 30 April, 2006.
3. Zhang YB, Xu XJ, Liu HM. Chemical constituents from mahkota dewa. *Journal of Asian Natural Products Research* 2006;8:119-21.
4. Oshimi, S., Zaima, K., Matsuno, Y., Hirasawa, Y., Iizuka, T., Studiawan, H., Indrayanto, G., Zaini, N.C., and Morita, H., Studies on the constituents from the fruits of *Phaleria macrocarpa*, *J. Nat.. Med.* **62** (2008), 207-210.
5. Wahyuningsih MSH, Mubarika S, Artama WT, Wahyuono S, Gandjar IG. Sitotoksisitas phalerin hasil isolasi dari daun mahkota dewa [*Phaleria macrocarpa* (Scheff.) Boerl.] terhadap berbagai sel kanker manusia *in vitro*. *Majalah Obat Tradisional* 2005;10:5.
6. Winarno, E.K. dan Winarno, H., Aktivitas sitotoksik Kulit batang mahkota Dewa, *Majalah Obat Tradisional*, **13** (45), 2008, 120-127.
7. Winarno, H. dan Katrin, E., Isolasi dan karakterisasi senyawa anti kanker dalam kulit batang mahkota dewa, *Indonesian Journal of Chemistry*, **9** (1), 2009, 142-145.
8. Winarno, H. and Winarno, E.K., Benzophenone glucoside isolated from the ethyl acetate extract of mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa* (Scheff.) Boerl) and its inhibitory activity on leukemia L1210 cell line, *Indo. J. Chem.*, UGM, Vol. **9** (1) 142-145, (March 2009).
9. Rahayu Chosdu, Nikham dan Taty Erlinda b, Radiopasteurisasi, Uji antimikroba dan anti oksidan daging buah mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa* (Scheff.) Boerl), Laporan teknis PATIR-BATAN, Jakarta (2006).
10. Nazly H, Penetapan dosis pasteurisasi dan sterilisasi, Prosiding Diskusi Panel, BATAN, Jakarta (1981).
11. Anonim, Cara pembuatan simplisia, BPOM-Depkes RI, Jakarta (1985).

12. Chosdu, R., Pemanfaatan sinar gamma untuk pengawetan simplisia tumbuhan obat dan produk olahannya, Prosiding Simposium Nasional Tumbuhan Obat dan Aromatik, APINMAP, 1996.
13. MANS, D.R.A., ROCHA, A.B., and SCHWARTSMANN, G., Anti-cancer drug discovery and development in Brazil: Targeted plant collection as a national strategy to acquire candidate anti-cancer compounds, *The Oncologist*, **5** (3), 185-198 (2000).