

Iradiasi Sediaan Obat Herbal Temu Putih *Curcuma zedoaria* (Berg) Rosc.: Cemaran Mikroba, Sitotoksitas dan Profil Kromatogram

(Irradiation of Herbal Medicine of White Turmeric *Curcuma zedoaria* (Berg.)Rosc.: Microbial Contamination, Cytotoxicity and Chromatogram Profile)

ERMIN KATRIN W.^{1*}, EPSI NARULITA², ZUHELMI AZIZ², HENDIG WINARNO^{1,2}

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

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

Accepted 18th April 2012, Approved 22nd December 2012

Abstrak: Teknik iradiasi gamma dimanfaatkan untuk pengawetan bahan obat herbal, salah satunya rimpang temu putih *Curcuma zedoaria* (Berg) Rosc. sebagai obat kanker rahim. Penelitian ini bertujuan untuk mempelajari pengaruh iradiasi gamma terhadap cemaran mikroba, aktivitas sitotoksik terhadap sel leukemia L1210 dan profil kromatogram dari fraksi aktif sediaan obat herbal temu putih. Iradiasi gamma dilakukan dengan sumber ⁶⁰Co pada dosis 5; 7,5; 10 dan 15 kGy. Setelah iradiasi > 7,5 kGy tidak ditemukan bakteri dan kapang kamir pada sediaan tersebut. Sediaan kontrol dan yang telah diiradiasi dimaserasi berurutan dengan *n*-heksan, etil asetat dan etanol. Ekstrak etil asetat paling sitotoksik terhadap sel leukemia L1210 dengan nilai IC₅₀ 10,60 µg/mL dibandingkan dengan ekstrak *n*-heksan dan etil asetat. Ekstrak etil asetat difraksinasi dengan kromatografi kolom, diperoleh 6 fraksi. Fraksi 2 merupakan fraksi paling sitotoksik dengan nilai IC₅₀ 2,44 µg/mL. Hasil analisis kromatografi lapis tipis ekstrak etil asetat dan fraksi 2 dari ekstrak etil asetat menunjukkan adanya kurkumin. Profil kromatogram baik sediaan kontrol dan yang diiradiasi sampai dosis 15 kGy menunjukkan adanya kurkumin dan pola yang sama. Persentase kurkumin dalam fraksi 2 antara 35 sampai 51%, kadar kurkumin dalam sampel yang diiradiasi sampai dengan dosis 15 kGy tidak mengalami perubahan yang bermakna. Dosis maksimum untuk iradiasi sediaan obat herbal temu putih adalah 15 kGy.

Kata kunci: Temu putih, *Curcuma zedoaria* (Berg) Rosc., iradiasi, cemaran mikroba, sitotoksitas, kromatogram.

Abstract: Gamma irradiation has been used for preservation of herbal medicines, one of which is temu putih *Curcuma zedoaria* (Berg) Rosc. to cure cervical cancer. This research aimed to study the gamma irradiation effects on microbial contamination, cytotoxic activity against leukemia L1210 cell lines and chromatogram profile of the temu putih active fraction. Gamma irradiation was performed with a ⁶⁰Co source at 5, 7.5, 10 and 15 kGy. After irradiation at > 7.5 kGy bacteria and mould were not present on herbs. Control and irradiated samples were consecutively macerated with *n*-hexane, ethyl acetate and ethanol. Ethyl acetate extract was the most cytotoxic against L1210 leukemia cells with an IC₅₀ value of 10.60 µg/mL as compared to *n*-hexane or ethanol extract. Ethyl acetate extract was fractionated with column chromatography producing six fractions. Fraction 2 was the most cytotoxic against L1210 leukemia cells with an IC₅₀ value of 2.44 µg/mL. The thin-layer chromatographic analysis results of ethyl acetate extract and fraction 2 of control and irradiated samples showed the presence of curcumin and chromatographic pattern similar to the control. Curcumin contents in fraction 2 were between 35 to

* Penulis korespondensi, Hp. 08158273801
e-mail: erminkk@batan.go.id

51%, which were not significantly changed between samples, although was irradiated up to 15 kGy. The maximum dose for irradiation of temu putih herbal preparation is 15kGy.

Keywords: Temu putih, *Curcuma zedoaria* (Berg) Rosc., irradiation, microbial contamination, cytotoxicity, chromatogram.

PENDAHULUAN

SALAH satu tumbuhan obat asli Indonesia adalah temu putih (*Curcuma zedoaria*) yang juga dikenal masyarakat dengan nama kunir putih. Temu putih memiliki khasiat sebagai antikanker, antioksidan, hepatoprotektor, antimikroba, anti radang dan antitrombotik⁽¹⁾. Pada umumnya bagian yang digunakan adalah rimpangnya. Rimpang temu putih sebagai antikanker tidak hanya digunakan di Indonesia tetapi juga digunakan di beberapa negara lain, salah satunya adalah Thailand⁽²⁾. Aktivitasnya sebagai antikanker tersebut diduga karena adanya beberapa komponen penting antara lain kurkuminoid (kurkumin, demetoksikurkumin, bisdemetoksikurkumin, dan 1,7-bis (4-hidroksifenil)-1,4,6-heptatrien-3-on) yang dapat menghambat sel-sel OVCAR-3, yaitu sel kanker ovarium manusia⁽³⁾.

Kontaminasi mikroba pada produk obat tradisional dan produk makanan pada umumnya bersumber dari bahan baku, pekerja dan lingkungan pengolahan termasuk peralatan produksi. Kontaminasi dapat meliputi mikroorganisme indikator (ketinggian angka lempeng total, bakteri aerobik mesofilik), bakteri golongan Coliform dan *Escherichia coli*, bakteri patogen (*Salmonella*, *Clostridium* dan *Staphylococcus aureus*) dan golongan jamur penghasil toksin seperti *Aspergillus flavus*⁽⁴⁾. Pada kapsul sebagai pengemas obat herbal ditemukan total bakteri yaitu <10 koloni/g⁽⁵⁾.

Saat ini banyak beredar serbuk, ramuan jamu dan sediaan obat herbal dalam kapsul atau sediaan rimpang temu putih yang lain. Penanganan paska panen simplisia atau sediaan obat herbal dilakukan dengan bermacam-macam cara, salah satunya adalah dengan menggunakan iradiasi gamma untuk mengawetkan dan mengurangi jumlah mikroba. Pengawetan dengan iradiasi bertujuan untuk mencegah kerusakan oleh mikroba pembusuk dan kontaminasi mikroba patogen. Berdasarkan Surat Keputusan Menteri Kesehatan Republik Indonesia No. 661/MENKES/SK/VII/1994, persyaratan angka lempeng total untuk obat tradisional tidak boleh lebih dari 10⁷ koloni/g dan angka kapang khamir tidak boleh lebih dari 10⁴ koloni/g⁽⁶⁾. Beberapa simplisia yang dipakai sebagai bahan campuran jamu di Malaysia dan Indonesia (seperti jahe, kunyit, kencur, kayu rapat, sambiloto, dll.) dideteksi mengandung aflatoxin⁽⁷⁾.

Penelitian sebelumnya telah melaporkan bahwa serbuk rimpang temu putih yang diiradiasi dengan dosis 7,5 kGy dapat menghentikan pertumbuhan bakteri maupun kapang khamir, tanpa merusak aktivitas sitotoksiknya sebagai antikanker⁽⁸⁾. Pengawetan menggunakan iradiasi gamma selain dapat mengurangi jumlah mikroba, juga dapat memperpanjang lama simpan simplisia tersebut dalam kemasan⁽⁹⁾. Menurut PERMENKES 701/MENKES/PER/ VIII/2009 tentang pangan iradiasi bahwa dosis maksimum yang diijinkan untuk mengurangi jumlah mikroorganisme patogen tertentu pada herbal adalah 10 kGy⁽¹⁰⁾. Pengawetan bahan alam dengan proses radiasi bertujuan untuk mencegah kerusakan oleh serangga, mikroba pembusuk dan membebaskan dari kontaminasi mikroba patogen. Teknik iradiasi gamma untuk pengawetan simplisia telah digunakan oleh beberapa perusahaan obat herbal, namun masih sedikit penelitian yang dilakukan untuk mengetahui apakah ada perubahan yang terjadi akibat iradiasi gamma terhadap khasiat obat herbal tersebut.

Pengawetan simplisia obat telah banyak dilakukan dengan menggunakan teknik iradiasi, tetapi pada dosis tertentu dikawatirkan dapat merusak zat aktif, dalam hal ini zat inhibisi terhadap sel leukemia L1210. Oleh karena itu perlu diteliti apakah ada perubahan aktivitas sitotoksik terhadap sel leukemia L1210 dan profil kromatogram akibat iradiasi gamma pada sediaan obat herbal temu putih. Disamping itu ingin diketahui dosis iradiasi maksimum untuk pengawetan sediaan obat herbal temu putih tanpa mengakibatkan perubahan aktivitas sitotoksitasnya. Pada penelitian ini diamati jumlah mikroba maupun kapang khamir dalam sediaan obat herbal temu putih, serta dipelajari pengaruh iradiasi gamma 5; 7,5; 10 dan 15 kGy terhadap aktivitas sitotoksiknya dan profil kromatogram fraksi aktif dengan menggunakan metode Kromatografi Lapis Tipis (KLT) dan Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT).

BAHAN DAN METODE

BAHAN. Sediaan obat herbal temu putih *Curcuma zedoaria* (Berg) Rosc. diperoleh dari toko herbal di Jakarta Selatan, *n*-heksan, etil asetat, etanol, metanol, kloroform, diklorometana, Nutrient Agar, Potatoes Dextrose Agar, air pepton 0,1%, RPMI-Medium 1640 (Gibco), *calf bovine serum* (Gibco), sel leukemia

L1210 dari The Institute of Physical and Chemical Research Jepang, biru tripan, silika gel 60 mesh (70-230), *celite* 545, lempeng silika GF₂₅₄, larutan penampak bercak serum sulfat 1% dalam H₂SO₄ 10%, kurkumin (Merck), metanol HPLC.

Alat. Iradiator Karet Alam (IRKA), KCKT (Shimadzu LC 6-A), KLT-densitometer, inkubator CO₂, oven, otoklaf, penguap putar vakum/rotavapor (EYELA dan BUCHI), peralatan untuk kromatografi kolom, lampu UV (254 nm dan 366 nm), pemanas listrik (*hot plate*), pencuci ultrasonik, mikroskop (Nikon), *multi well plate tissue's culture* dan hemositometer.

METODE. Penyiapan bahan dan iradiasi gamma. Sediaan obat herbal temu putih dalam bentuk kapsul dimasukkan ke dalam botol plastik, setiap botol berisi 60 kapsul, tiap kapsul mengandung ekstrak temu putih seberat 550 mg. Botol-botol plastik dimasukkan dalam kotak karton, setiap kotak berisi 2 botol sampel, kemudian diiradiasi dengan sumber gamma ⁶⁰Co pada dosis 5; 7,5; 10; 15 kGy, masing-masing dosis dilakukan 2 kali ulangan.

Penetapan cemaran mikroba. Penetapan angka lempeng total dan penetapan angka kapang dan khamir dilakukan dengan cara uji cemaran mikroba sesuai SNI⁽¹¹⁾.

Ekstraksi dan fraksinasi. Pembuatan ekstrak obat herbal temu putih dilakukan menggunakan teknik maserasi secara bertahap. Pertama sejumlah lebih kurang 18 gram sampel dimaserasi dengan 200 mL pelarut *n*-heksan sebanyak 4 kali, maserasi dilanjutkan dengan 200 mL pelarut etil asetat yang dilakukan 4 kali, dan maserasi terakhir dengan 200 mL pelarut etanol yang dilakukan 4 kali. Filtrat *n*-heksan, etil asetat dan etanol masing-masing dipekatkan dengan menggunakan rotavapor pada suhu 40°C hingga diperoleh ekstrak kental. Ekstrak kental tersebut divakum sampai kering lalu ditimbang. Pemisahan dilakukan dengan kromatografi kolom dengan pelarut sistem landaian (gradien) diklorometana-metanol dengan perbandingan 50:1, 30:1, 5:1, 1:1 dan metanol, masing-masing 150 mL. Fraksi yang diperoleh 6 fraksi, masing-masing dipekatkan sampai kental, selanjutnya divakum sampai kering dan ditimbang bobotnya.

Pengujian aktivitas sitotoksik secara *in vitro*. Pengujian aktivitas sitotoksik dilakukan terhadap ekstrak etil asetat dari kontrol dan sampel yang diiradiasi, dengan variasi konsentrasi sampel uji 5, 10, 20, 40 dan 80 bpj dengan pelarut metanol. Sel leukemia L1210 ditumbuhkan dalam media RPMI1640 yang mengandung NaHCO₃ suplemen *calf bovine serum* 15% (jumlah sel awal 2 x 10⁵ sel/mL). Sel dikultivasi dalam *multi well plate tissue's culture* dengan dan tanpa zat uji pada suhu 37°C dalam inkubator CO₂ 5%

selama 48 jam, dan kemudian proliferasi dan viabilitas selnya dihitung dengan metode biru tripan⁽⁸⁾. Ekstrak dinyatakan aktif menghambat pertumbuhan sel kanker apabila memiliki nilai IC₅₀ ≤ 20 µg/mL⁽¹²⁾. Aktivitas sitotoksik fraksi-fraksi yang diperoleh dari pemisahan dengan kromatografi kolom ditentukan dengan cara yang sama, namun variasi konsentrasi dibuat 1, 2, 4, 8 dan 16 bpj (bagian per juta) dengan pelarut metanol.

Kromatografi lapis tipis (KLT). Fraksi paling aktif (fraksi 2) hasil fraksinasi kolom dari sampel kontrol dan yang diiradiasi selanjutnya dianalisis dengan KLT. Fraksi paling aktif ditimbang sebanyak 2 mg dilarutkan dalam 100 µL etil asetat kemudian ditotolkan sebanyak 10 µL pada lempeng silika gel GF₂₅₄ kemudian dielus dengan fase gerak diklorometan-metanol (20:1) sampai jarak rambat 8 cm. Bercak diamati dibawah sinar UV 254 dan 366 nm, kemudian lempeng disemprot dengan pereaksi 1% serum sulfat dalam H₂SO₄ 10%, lalu dikeringkan di atas pemanas listrik (*hot plate*) hingga terbentuk bercak yang tetap.

Penentuan kadar kurkumin. Sebagai baku pembandingan digunakan serbuk kurkumin ditimbang 10 mg dilarutkan dalam asetonitril sampai volumenya 10 mL. Selanjutnya dibuat larutan BP kurkumin dengan konsentrasi 4, 5, 6, 7 dan 8 bpj. Fraksi 2 dari temu putih kontrol dan yang diiradiasi dengan dosis 5; 7,5; 10 dan 15 kGy ditimbang sejumlah lebih kurang 10 mg dilarutkan dalam asetonitril sampai 10 mL. Selanjutnya dibuat larutan dengan konsentrasi 20 bpj. Sebanyak 20 µL larutan uji diinjeksikan ke KCKT, menggunakan kolom varian *microsorb* MV, C-18 (250 x 4,6 mm), detektor UV pada panjang gelombang 425 nm, fase gerak asetonitril-asam asetat 1% (7:3) dan kecepatan alir fase gerak 0,6 mL/menit.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Uji cemaran mikroba. Uji cemaran mikroba pada sediaan obat herbal temu putih dilakukan untuk mengetahui pengaruh iradiasi terhadap mikroba dalam sediaan kapsul yang diiradiasi. Hasil uji cemaran mikroba dari lebih kurang 5 gram ekstrak kental rimpang temu putih *Curcuma zedoaria* (Berg.) Rosc. yang telah diiradiasi dengan dosis 5; 7,5; 10 dan 15 kGy serta kontrol (tidak diiradiasi) disajikan pada Tabel 1. Hasil uji cemaran mikroba menunjukkan bahwa pada sediaan obat herbal temu putih yang diiradiasi dengan dosis 7,5 sampai 15 kGy tidak ada pertumbuhan bakteri maupun kapang khamir. Pada sediaan yang tidak diiradiasi ulangan I pertumbuhan bakteri sebesar 16x10² kol/g, ulangan II sebesar 41x10² kol/g, sedangkan pada sediaan yang diiradiasi pada dosis 5 kGy pertumbuhan bakteri pada ulangan

Tabel 1. Hasil uji cemaran jumlah bakteri dan kapang khamir pada obat herbal temu putih.

Dosis (kGy)	Jumlah bakteri (koloni/g)		Angka kapang khamir (koloni/g)	
	Ulangan I	Ulangan II	Ulangan I	Ulangan II
0	16x10 ²	41x10 ²	2x10 ²	36x10 ²
5	2,2x10 ²	35x10 ²	0,35x10 ²	0,8x10 ²
7,5	0	0	0	0
10	0	0	0	0
15	0	0	0	0

I sebesar 2,2x10² kol/g dan ulangan II sebesar 35x10² kol/g. Hasil pengamatan pertumbuhan angka kapang khamir pada sediaan yang tidak diiradiasi ulangan I sebesar 2x10² kol/g dan ulangan II sebesar 36x10² kol/g, sedangkan yang diiradiasi pada dosis 5 kGy pada ulangan I sebesar 0,35x10² kol/g dan ulangan II sebesar 0,8x10² kol/g. Obat herbal temu putih dengan kontaminasi awal bakteri 10² kol/g dan kontaminasi awal kapang khamir 10² kol/g dapat dieliminasi dengan dosis iradisi gamma $\geq 7,5$ kGy.

Tabel 2. Hasil ekstrak obat herbal temu putih.

Ekstrak	Dosis (kGy)	Warna	Bobot (g)	Rendemen (%)
<i>n</i> -heksan	0,0	Cokelat tua	1,14	6,33
	5,0		1,18	6,56
	7,5		1,09	6,06
	10,0		1,19	6,61
	15,0		1,16	6,44
Etil asetat	0,0	Cokelat tua	1,19	6,61
	5,0		1,58	8,78
	7,5		1,59	8,83
	10,0		1,69	9,39
	15,0		1,88	10,40
Etanol	0,0	Cokelat tua	0,91	5,06
	5,0		0,76	4,22
	7,5		0,98	5,44
	10,0		0,40	2,22
	15,0		0,29	1,61

Pembuatan ekstrak. Hasil ekstraksi terhadap lebih kurang 18 g ekstrak obat herbal temu putih yang dilakukan secara bertahap dengan dosis 5; 7,5; 10 dan 15 kGy disajikan pada Tabel 2. Rendemen terhadap bobot ekstrak yang dimaserasi dari sediaan obat herbal temu putih yang terbesar diperoleh dari ekstrak etil asetat yaitu antara 6,61% - 10,4%.

Uji aktivitas sitotoksik ekstrak. Pada skrining awal untuk mengetahui ekstrak paling aktif dari obat herbal temu putih hanya dilakukan terhadap sampel obat herbal yang tidak diiradiasi. Hasil uji aktivitas sitotoksik dari ketiga ekstrak yaitu ekstrak *n*-heksan, etil asetat, dan etanol sebagai inhibitor pertumbuhan

sel leukemia L1210 disajikan pada Tabel 3. Dari ketiga ekstrak tersebut ekstrak etil asetat mempunyai nilai IC₅₀ paling kecil yaitu 10,60 µg/mL. Menurut American National Cancer Institute (NCI) ekstrak dikatakan aktif berpotensi sebagai anti kanker jika nilai IC₅₀ ≤ 20 µg/mL⁽¹²⁾. Jadi ekstrak etil asetat adalah ekstrak yang paling aktif, dan selanjutnya difraksinasi lebih lanjut menggunakan kromatografi kolom.

Tabel 3. Hasil uji aktivitas sitotoksik obat herbal dari ekstrak temu putih (tidak diiradiasi) terhadap pertumbuhan sel leukemia L1210.

Ekstrak	IC ₅₀ (µg/mL)
<i>n</i> -heksan	21,53
Etil asetat	10,60
Etanol	10,84

Kromatografi lapis tipis ekstrak paling aktif.

Kromatografi lapis tipis yang dilakukan terhadap ekstrak paling aktif yakni ekstrak etil asetat bertujuan untuk mengetahui pola kromatogram dari sampel obat herbal yang diiradiasi dan yang tidak diiradiasi. Pola kromatogram tersebut menunjukkan pola yang tidak sama setelah dosis 7,5 kGy. Hal ini menunjukkan adanya pengaruh iradiasi terhadap komponen-komponen di dalam ekstrak etil asetat, namun bercak yang hilang itu bukan merupakan bercak kurkumin. Kemungkinan bercak 2 dan 3 merupakan bercak kurkumin karena Rf bercak 2 dan 3 sama dengan Rf baku pembanding kurkumin di mana bercak 2 dengan nilai Rf 0,4 dan bercak 3 dengan nilai Rf 0,6 tersebut adalah zat pengidentitas kurkumin walaupun belum tentu merupakan zat berkhasiat. Hasil kromatografi lapis tipis ekstrak etil asetat disajikan pada Gambar 1.

Fraksinasi ekstrak paling aktif dengan kromatografi kolom. Fraksinasi terhadap lebih kurang satu gram ekstrak etil asetat dengan kolom kromatografi dilakukan dua kali, kemudian dihitung rendemennya terhadap bobot ekstrak yang difraksinasi tersebut. Hasil fraksinasi diperoleh 6 fraksi yang dapat dilihat pada Tabel 4 dan kromatografi lapis tipis

Tabel 4. Hasil fraksinasi ekstrak etil asetat dari sediaan temu putih kontrol dan yang diradiasi.

Fraksi	Dosis (kGy)	Warna	Eluen	Bobot rata-rata (g)	Rendemen (%)
1	0	Oranye (jingga)	Diklorometan-metanol (50:1)	0,2280	22,800
	5			0,1252	12,520
	7,5			0,1219	12,190
	10			0,2038	20,380
	15			0,1064	10,640
2	0	Cokelat	Diklorometan-metanol (50:1)	0,1700	17,000
	5			0,2584	25,840
	7,5			0,1514	15,140
	10			0,1450	14,500
	15			0,2299	22,990
3	0	Kuning	Diklorometan-metanol (30:1)	0,1502	15,020
	5			0,0542	5,420
	7,5			0,0616	6,160
	10			0,0710	7,100
	15			0,0821	8,210
4	0	Kuning muda	Diklorometan-metanol (5:1)	0,2618	26,180
	5			0,2789	27,890
	7,5			0,4101	41,010
	10			0,1182	11,820
	15			0,2839	28,390
5	0	Kuning muda	Diklorometan-metanol (1:1)	0,1370	13,700
	5			0,0913	9,130
	7,5			0,1501	15,010
	10			0,1423	14,230
	15			0,0878	8,780
6	0	Bening	Metanol	0,0419	4,190
	5			0,0293	2,930
	7,5			0,0145	1,450
	10			0,2067	20,670
	15			0,0803	8,030

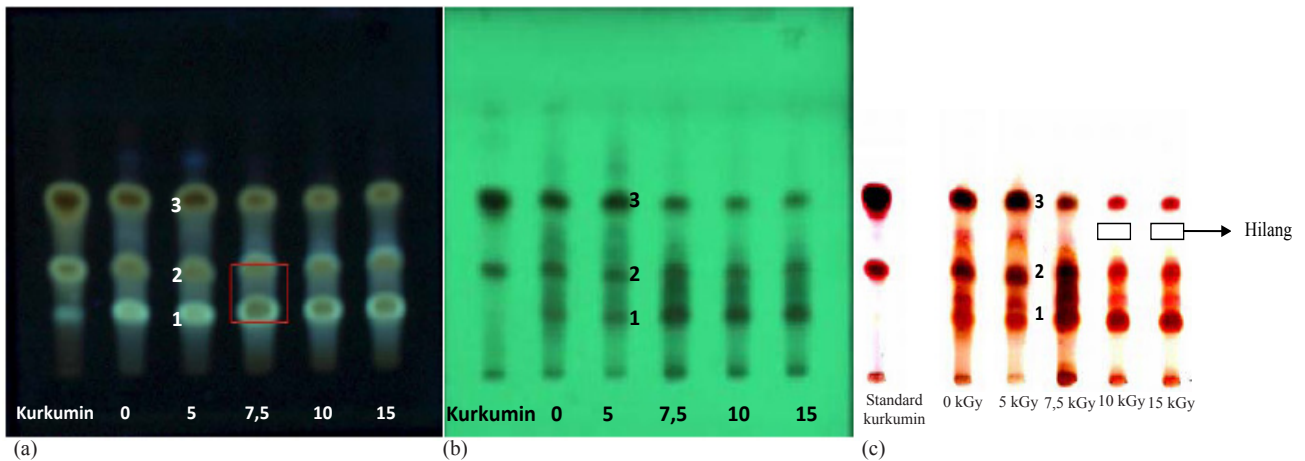
fraksi 1 sampai 6 disajikan pada Gambar 2. Hasil KLT fraksi 1 sampai dengan fraksi 6 pada Gambar 2 hanya dilakukan pada ekstrak etil asetat dari obat herbal temu putih yang tidak mengalami iradiasi (kontrol).

Uji aktivitas sitotoksik fraksi etil asetat dan fraksi aktif terhadap sel leukemia L1210. Uji aktivitas fraksi 1 sampai 6 terhadap sel leukemia L1210 hanya dilakukan dari sampel obat herbal temu putih yang tidak diiradiasi untuk mengetahui fraksi yang paling aktif. Hasil pengujian berupa persamaan garis linear disajikan pada Gambar 3 dan nilai IC_{50} yang diperoleh pada Tabel 5.

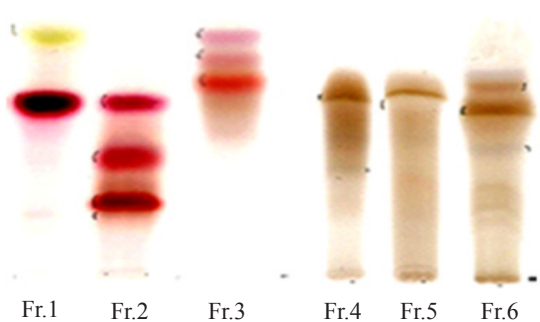
Tabel 5 menunjukkan bahwa keenam fraksi tersebut mempunyai aktivitas sebagai inhibitor pertumbuhan sel leukemia L1210 dengan nilai $IC_{50} \leq 20 \mu\text{g/mL}$. Menurut American National Cancer Institute (NCI) ekstrak dikatakan aktif berpotensi sebagai anti kanker jika nilai $IC_{50} \leq 20 \mu\text{g/mL}$ ⁽¹²⁾. Fraksi 2 merupakan fraksi paling aktif dengan nilai IC_{50} paling kecil yaitu $2,44 \mu\text{g/mL}$. Selanjutnya uji aktivitas dari sediaan temu putih yang diiradiasi hanya dilakukan terhadap fraksi 2.

Hasil uji aktivitas fraksi 2 sebagai inhibitor pertumbuhan sel leukemia L1210 dari sampel kontrol dan yang diiradiasi disajikan pada Gambar 4. Nilai IC_{50} fraksi 2 mengalami peningkatan seiring meningkatnya dosis iradiasi sediaan temu putih, namun tetap aktif menghambat pertumbuhan sel leukemia L1210 dengan nilai $IC_{50} \leq 20 \mu\text{g/mL}$. Aktivitas sitotoksik fraksi 2 ekstrak etil asetat terjadi penurunan, diduga karena efek langsung radiasi pada senyawa aktif berupa ionisasi pada senyawa aktif tersebut, di mana semakin besar dosis yang diberikan akan semakin besar daya ionisasi sehingga akan menyebabkan terjadi perubahan fisika dan kimia yang dapat menyebabkan semakin menurunnya aktivitas senyawa tersebut⁽¹³⁾.

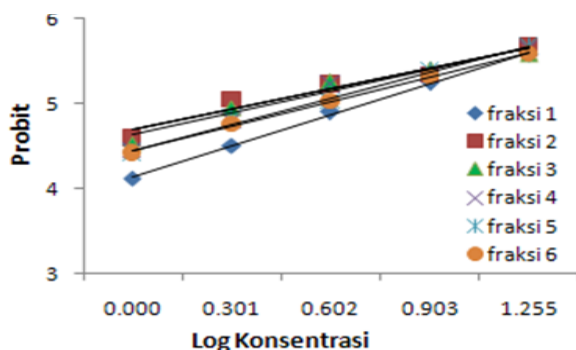
Gambar 4 menunjukkan hasil analisis statistik aktivitas sitotoksik fraksi 2 pada berbagai dosis iradiasi dengan uji ANOVA satu arah menggunakan SPSS 16,0 for Windows pada taraf kepercayaan 95% ($\alpha = 0,05$) menunjukkan bahwa ada perbedaan yang nyata antara IC_{50} fraksi 2 kontrol dengan nilai IC_{50} fraksi 2 sediaan yang diiradiasi dosis 5; 7,5; 10 dan 15



Gambar 1. Kromatogram KLT ekstrak etil asetat kurkumin pada 254 nm (a), 366 nm (b) dan hasil penyemprotan (c).
Keterangan: Fase gerak: kloroform : metanol (20:1); fase diam: silika gel GF₂₅₄; deteksi: sinar UV pada λ 254 nm; penampak bercak: 1% serum sulfat dalam 10% asam sulfat.



Gambar 2. Kromatogram KLT fraksi 1 s.d. fraksi 6 dari ekstrak etil asetat temu putih yang tidak diiradiasi.
Keterangan: Fase diam: silika gel GF₂₅₄; fase gerak: Fr.1 dan 2: diklorometan-metanol (20:1), Fr.3: diklorometan-metanol (10:1), Fr.4, 5 dan 6: diklorometan-metanol (5:1); deteksi: sinar UV pada λ 254 nm.



Gambar 3. Grafik hubungan antara log konsentrasi dan probit aktivitas sitotoksik fraksi 1- 6.

kGy dan tidak ada perbedaan yang nyata antara IC₅₀ fraksi 2 pada dosis 5; 7,5; 10 dan 15 kGy.

Analisis kromatografi lapis tipis fraksi 2 ekstrak etil asetat. Profil kromatogram lapis tipis fraksi 2 dari sediaan obat herbal temu putih kontrol (0 kGy)

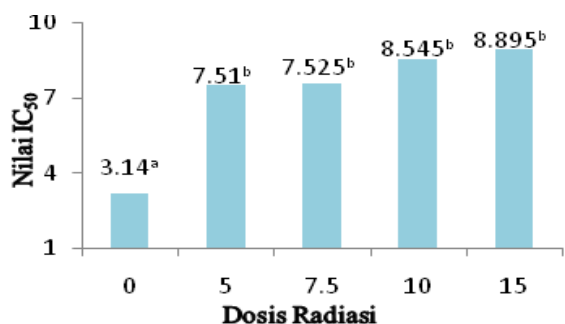
Tabel 5. Hasil uji aktivitas sitotoksik fraksi 1 sampai 6 dari ekstrak etil asetat temu putih yang tidak diiradiasi terhadap pertumbuhan sel leukemia L1210.

Fraksi	Persamaan regresi linier	IC ₅₀ (µg/mL)
1	y = 1,2191x + 4,136	5,11
2	y = 0,8106x + 4,686	2,44
3	y = 0,8504x + 4,632	2,71
4	y = 0,9667x + 4,508	3,23
5	y = 1,0198x + 4,452	3,45
6	y = 0,9567x + 4,442	3,83

dan yang diiradiasi (5; 7,5; 10 dan 15 kGy) disajikan pada Gambar 5.

Dari profil kromatogram tersebut terdapat 3 bercak yang terkandung dalam fraksi 2 dan dapat dilihat juga bahwa proses iradiasi dengan variasi dosis tertentu tidak dapat mempengaruhi pola dari ketiga bercak tersebut. Hal ini mungkin karena efek langsung radiasi tersebut tidak dapat menyebabkan perubahan fisika maupun kimia. Profil KLT fraksi 2 secara umum tidak mengalami perubahan, hal ini didukung pula oleh profil KLT-densitometri pada Gambar 6 yang masing-masing sampel mempunyai 4 puncak mayor dengan profil yang sama.

Analisis kromatografi cair kinerja tinggi fraksi 2 ekstrak etil asetat. Profil kromatogram KCKT fraksi 2 etil asetat dari kontrol maupun fraksi yang diiradiasi dapat dilihat pada Gambar 7. Fraksi 2 dari sediaan obat herbal temu putih mengandung satu komponen, yang merupakan senyawa kurkumin (sisipan pada Gambar 7) dengan waktu retensi 8,74 menit sama dengan waktu retensi puncak kurkumin



Gambar 4. Diagram batang hasil analisis statistik uji sitotoksik fraksi 2 dengan variasi dosis iradiasi. Keterangan: Angka notasi huruf yang sama tidak berbeda nyata.

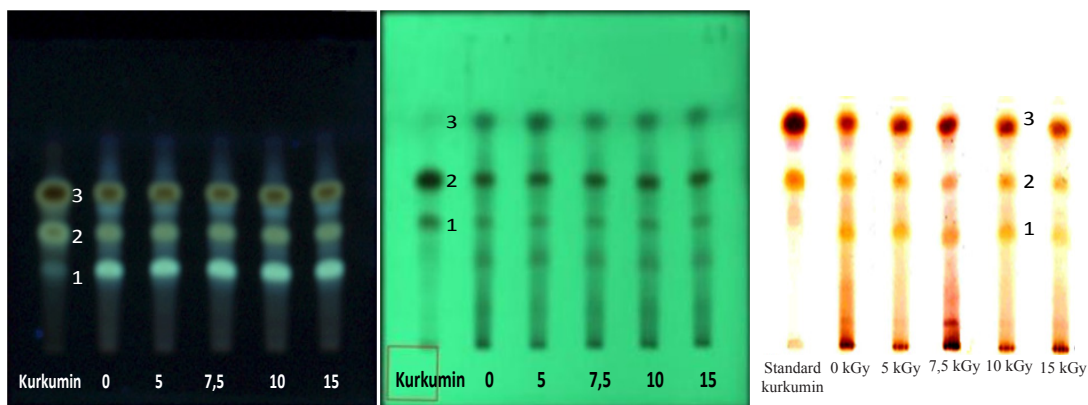
8,79 menit. Rimpang temu putih mengandung kurkumin yang memiliki aktivitas menghambat sel OVCAR-3, yaitu sel kanker ovarium manusia⁽³⁾. Kadar kurkumin dalam fraksi 2 dari ekstrak etil asetat sediaan temu putih disajikan pada Gambar 8. Hasil analisis kadar kurkumin yang terdapat pada fraksi 2 ekstrak etil asetat sediaan obat herbal temu putih dengan uji anova satu arah menggunakan SPSS 16,0 for Windows pada taraf kepercayaan 95% ($\alpha = 0,05$) menunjukkan bahwa

tidak ada perbedaan yang bermakna antara kontrol dengan dosis 5; 7,5; 10 dan 15 kGy (Gambar 8).

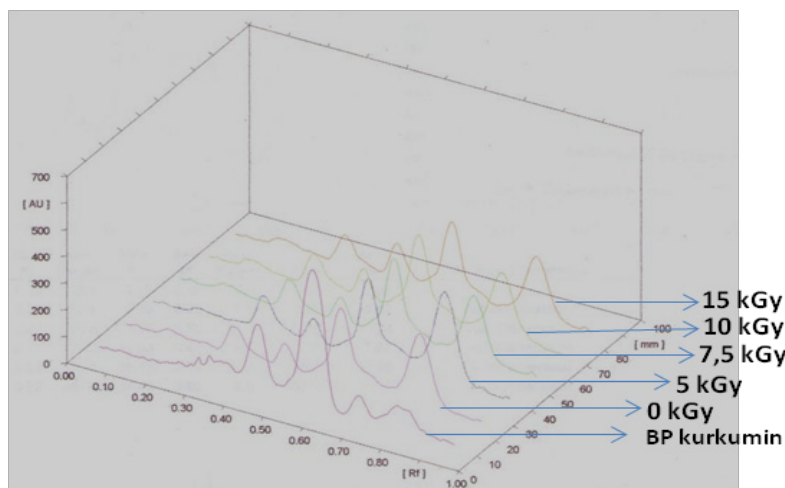
Hasil analisis kadar kurkumin tersebut berkaitan dengan aktivitas sitotoksik fraksi 2, bahwa sampai dosis 15 kGy tidak mengalami perubahan yang bermakna. Dengan demikian dosis 15 kGy merupakan dosis maksimum untuk mengawetkan sediaan obat herbal temu putih.

Uji cemar mikroba yang dilakukan terhadap sediaan obat herbal temu putih pada dosis $\geq 7,5$ kGy tidak memperlihatkan adanya pertumbuhan mikroba. Uji sitotoksik ekstrak *n*-heksan, etil asetat dan etanol terhadap sel leukemia L1210 menunjukkan bahwa ekstrak etil asetat paling aktif diperoleh nilai IC₅₀ 10,60 $\mu\text{g}/\text{mL}$. Ekstrak etil asetat difraksinasi dengan kromatografi kolom, diperoleh 6 fraksi, dan fraksi yang paling aktif (fraksi 2) memiliki nilai IC₅₀ 2,44 $\mu\text{g}/\text{mL}$.

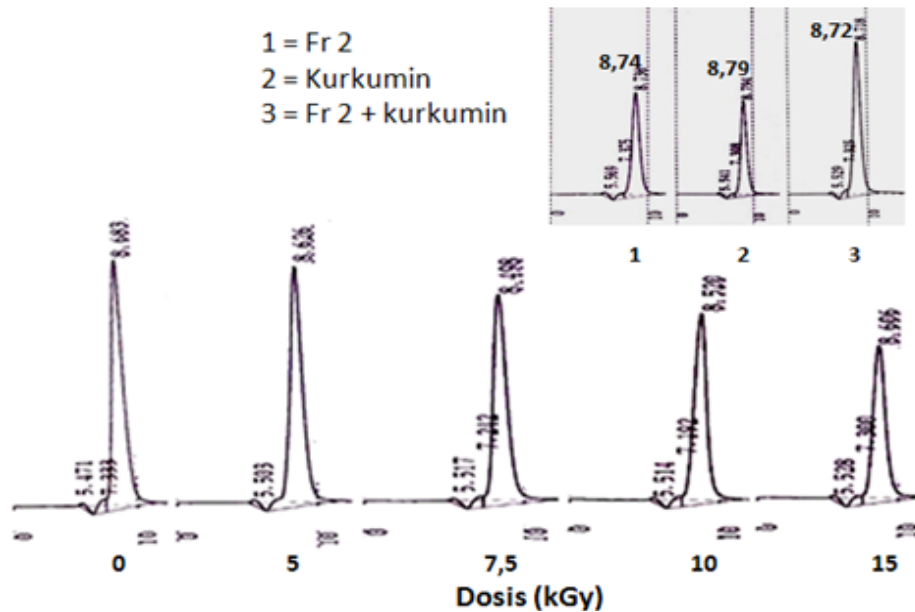
Analisis kromatografi lapis tipis fraksi 2 memiliki 3 bercak dengan bercak 2 dan 3 adalah kurkumin. Analisis kromatografi cair kinerja tinggi menunjukkan bahwa kandungan kurkumin pada fraksi 2 kontrol dan yang diiradiasi memiliki persentase antara 35% sampai



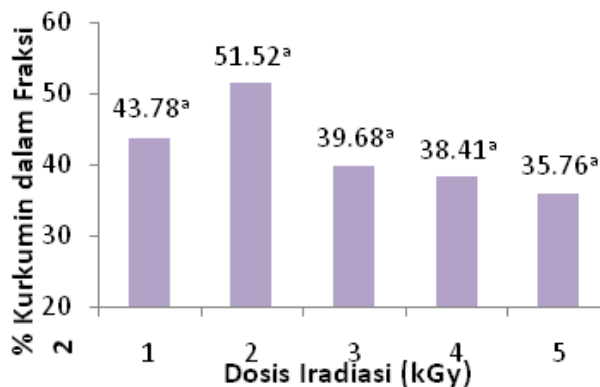
Gambar 5. Kromatogram ekstrak etil asetat pada UV 254 nm (a), 366 nm (b) dan hasil penyemprotan penampak bercak (c). Keterangan: Fase gerak: kloroform-metanol (20:1); fase diam: silika gel GF₂₅₄; deteksi: sinar UV pada λ 254 dan 366 nm; penampak bercak: 1% serum sulfat dalam 10% asam sulfat.



Gambar 6. Profil kromatogram KLT-Densitometri.



Gambar 7. Kromatogram KCKT obat herbal temu putih fraksi 2 dengan variasi dosis iradiasi. Keterangan: kondisi KCKT: Kolom: C-18; detektor: Shimadzu SPD-6A UV; λ 425 nm; eluen: asetonitril-asam asetat 1% (7:3); kecepatan alir: 0,6 mL/menit.



Gambar 8. Diagram batang persentase kurkumin yang terdapat pada fraksi 2 sediaan obat herbal temu putih ulangan 1 dan ulangan 2 variasi dosis. Keterangan: Angka notasi huruf yang sama tidak berbeda nyata.

51% yang berarti bahwa tidak ada perbedaan jumlah yang bermakna antara kontrol dan yang diiradiasi. Dosis maksimum untuk radiasi sediaan obat herbal temu putih adalah 15 kGy.

SIMPULAN

Uji cemaran mikroba yang dilakukan terhadap sampel kontrol dan yang diiradiasi menunjukkan bahwa dosis iradiasi 7,5 kGy sudah dapat menghentikan pertumbuhan mikroba. Aktivitas sitotoksik fraksi 2 dari sediaan obat herbal temu putih yang diiradiasi sampai dosis 15 kGy tidak mengalami perubahan bermakna, yaitu dengan nilai IC_{50} 2,44 sampai dengan 5,11 μ g/mL. Profil kromatogram KLT dan KCKT dari fraksi 2 sediaan obat herbal temu putih yang diiradiasi sampai

dosis 15 kGy dan kadar kurkuminnya tidak mengalami perubahan yang bermakna ($\alpha = 0,05$). Berdasarkan hasil yang diperoleh, maka dosis maksimum iradiasi gamma untuk mengawetkan sediaan obat herbal temu putih adalah 15 kGy.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih disampaikan kepada para staf Kelompok Iradiasi, Balai Iradiator Elektromekanika dan Instrumentasi, PATIR-BATAN yang telah membantu iradiasi sediaan obat herbal temu putih.

DAFTAR PUSTAKA

- Okky YP. Perbandingan morfologi tanaman, identifikasi mikroskopik dan kromatografi lapis tipis rimpang kunir putih [skripsi]. Jakarta: Fakultas Farmasi Universitas Pancasila; 2003. hal. 5-7, 9-10.
- Saetung A, Itharat A, Dechsukum C, Keawpradub K, Wattanapiromsakul C, Ratanasuwan P. Cytotoxic activity of Thai medicinal plants for cancer treatment. Songklanakarin J Sci Technol. 2005.27(Suppl. 2):469-78.
- Laksmi S, Padmaja G, Remani P. Antitumour effects of isocurcumenol isolated from *Curcuma zedoaria* rhizomes on human and murine cancer cells. Int J Med Chem. 2011.10:1155.
- Siti TZ. Analisis faktor-faktor yang berhubungan dengan pencemaran mikroba pada jamu gendong di kota Semarang [tesis]. Semarang: Universitas Diponegoro; 2005. hal. 91.
- Hardik S. Evaluation of herbal formulation (capsule) containing ashwagandha as a single herb with their

- nutritional value determination. Department of Pharmaceutical Sciences, Saurashtra University, Rajkot-360005, Gujarat, India, November-December, 2010(I): Issue-3.
6. Departemen Kesehatan RI. Peraturan perundang-undangan di bidang obat tradisional. Jakarta: Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan; 1999. hal. 69-87.
 7. Rita N. Kontaminasi cendawan dan mikotoksin pada tumbuhan obat. Balai Penelitian Tanaman Obat dan Aromatik. Juni 2008.7(1):35-46.
 8. Katrin EW, Albert JR, Tamat SR, Susanto, Winarno H. Sitotoksitas terhadap sel leukemia L1210 dan profil kromatogram dari serbuk temu putih *Curcuma zedoaria* (Berg.) Rosc. yang diradiasi. 2012. Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia. 2012.10(1):57-64.
 9. Irawati Z. Pengembangan teknologi nuklir untuk meningkatkan keamanan dan daya simpan bahan pangan. Jurnal Aplikasi Isotop dan Radiasi. 2007.3(2):48.
 10. Depkes RI. Keputusan Menteri Kesehatan Republik Indonesia No.701/MENKES/PER/VIII/2009 tentang Pangan Iradiasi. Jakarta: Depkes RI; 2009. hal. 4.
 11. Dewan Standarisasi Nasional-DSN. Cara uji cemaran mikroba. Jakarta: SNI 01-2897-1992.
 12. Abdullah F. Cytotoxic and wild type P-53 promoting activities of selected Zingiberaceae species in colon cancer cell lines (tesis). Kuala Lumpur: Faculty of Science University of Malaya; 2009. p. 25-26.
 13. Leswara ND. Radiofarmasi. Depok: Penerbit UI; 2005. hal. 117, 119-20.