

**PENGARUH IRADIASI GAMMA PADA AKTIVITAS SITOTOKSIK
DAGING BUAH MAHKOTA DEWA (*Phaleria macrocarpa* (Scheff) Boerl.)**

Ermin K. Winarno¹, Mazda², Hindra Rahmawati², dan Hendig Winarno²

¹Pusat Aplikasi Teknologi Isotop dan Radiasi – BATAN,
Jl. Lebak Bulus Raya No. 49, Jakarta 12440
e-mail: erminkk@batan.go.id

²Fakultas Farmasi - Universitas Pancasila, Jakarta

ABSTRAK

PENGARUH IRADIASI GAMMA PADA AKTIVITAS SITOTOKSIK DAGING BUAH MAHKOTA DEWA (*Phaleria macrocarpa* (Scheff) Boerl.). Iradiasi gamma telah digunakan oleh industri obat herbal untuk pengawetan simplisia tanaman obat, tetapi pengaruh iradiasi terhadap khasiatnya belum diteliti. Tujuan penelitian adalah memperoleh dosis iradiasi optimal untuk pengawetan simplisia daging buah mahkota dewa tanpa merusak khasiatnya. Telah dilakukan iradiasi gamma terhadap simplisia daging buah kering mahkota dewa pada variasi dosis 0; 5; 7,5 ; 10; 15; 20 kGy. Cemaran mikroba diuji dengan metode yang mengacu pada SNI, yang menunjukkan bahwa dosis 5 kGy telah dapat membunuh seluruh mikroba. Masing-masing sampel dimaserasi dengan etanol, lalu ekstrak yang diperoleh difraksinasi dengan kromatografi kolom, diperoleh 8 fraksi. Uji sitotoksitas fraksi-fraksi terhadap sel leukemia L1210 menunjukkan bahwa Fr.3 merupakan fraksi paling sitotoksik. Untuk menentukan dosis iradiasi optimal dalam menghambat pertumbuhan serta membunuh semua bakteri dan kapang/khamir pada simplisia daging buah mahkota dewa tanpa menurunkan aktivitas sitotoksik, dilakukan analisis kromatografi lapis tipis (KLT) dan kromatografi cair kinerja tinggi (KCKT) terhadap Fr.3. Hasil penelitian menunjukkan bahwa iradiasi dengan dosis ≥ 5 kGy pada simplisia daging buah mahkota dewa dapat menghambat pertumbuhan dan membunuh semua bakteri serta kapang khamir yang ada tanpa menurunkan aktivitas sitotoksik ekstrak etanol secara nyata terhadap sel leukemia L1210. Penurunan aktivitas sitotoksik ekstrak etanol terhadap sel leukemia L1210 secara nyata terjadi setelah iradiasi pada dosis ≥ 10 kGy. Pada dosis 10 kGy, aktivitas sitotoksik sudah terlihat menurun meskipun belum melampaui batas suatu fraksi dinyatakan tidak aktif dan hasil analisis profil kromatogram KLT menunjukkan bahwa Fr. 3 sedikitnya mengandung 10 komponen. Iradiasi sampai dengan dosis 20 kGy mengakibatkan intensitas salah satu puncak mayor menurun, dan penurunannya sebanding dengan besarnya dosis. Dosis 5 sampai 10 kGy merupakan dosis optimum untuk tujuan pengawetan tanpa merusak aktivitas sitotoksiknya.

Kata kunci: aktivitas sitotoksik, daging buah mahkota dewa, radiasi pengion, *Phaleria macrocarpa*

ABSTRACT

THE EFFECT OF GAMMA IRRADIATION ON CYTOTOXIC ACTIVITY OF THE FLESH OF MAHKOTA DEWA (*Phaleria macrocarpa* (Scheff.) Boerl.) FRUITS. Gamma irradiation had been used by herbs medicine industries for preservation of medicinal plants, but the effect of irradiation on their bioactivities has not been observed. The purpose of this research was to obtain the optimum radiation dose for the preservation of *mahkota dewa* flesh fruits without damaging their cytotoxic activities. To evaluate the effect of irradiation, dried samples of flesh fruit of *mahkota dewa* were irradiated at various doses of 0, 5, 7.5; 10; 15 and 20 kGy. Microbial contamination was tested using Indonesian National Standard method, which indicated that all microbes were killed at the dose of 5 kGy. Each sample was macerated with ethanol, and the extracts obtained were then fractionated with column chromatography, from which 8 fractions were obtained. Cytotoxicity test of the fractions against leukemia L1210 cells, showed that the Fr.3 was the most cytotoxic. To determine optimal irradiation dose to inhibit and to kill bacteria and yeast/mold in the *mahkota dewa* flesh fruit samples without decreasing cytotoxic activity, a thin layer chromatography (TLC) and high performance liquid chromatography (HPLC) analysis of the Fr.3 were done. The results showed that the doses of ≥ 5 kGy inhibited the growth and

killed all the bacteria, yeast and mold without decreasing significantly the cytotoxic activity of ethanol extract against leukemia L1210 cell. The significant decrease of cytotoxic against leukemia L1210 of ethanol extract were occurred after ≥ 10 kGy irradiation of the samples. At the dose of 10 kGy, the cytotoxicity decreased eventhough it was not exceeded the limit of the fraction was declared inactive. Analysis of thin layer chromatogram profiles showed that the Fr.3 contained at least 10 components. Irradiation until the dose of 20 kGy decreased the major peak intensity with the increasing of irradiation doses. It was concluded that the dose of 5 kGy to 10 kGy were the optimum dose for the presevation of flesh fruit of mahkota dewa without damaging their cytotoxic activities.

Key words: cytotoxic activity, ionizing irradiation, *mahkota dewa* fruit, *Phaleria macrocarpa*

1. PENDAHULUAN

Daging buah mahkota dewa mempunyai banyak khasiat antara lain untuk mengobati penyakit diabetes, hipertensi, gangguan liver dan kanker (1). Beberapa penelitian menunjukkan bahwa ekstrak daging buah dan kulit biji mahkota dewa mempunyai aktivitas sitotoksik terhadap sel leukemia L1210 dengan nilai IC_{50} antara 4,00-7,71 $\mu\text{g/ml}$. Diduga zat yang terkandung dalam ekstrak tersebut berpotensi untuk dikembangkan sebagai anti kanker (2). Hasil isolasi buah mahkota dewa menunjukkan bahwa di dalamnya terdapat beberapa senyawa, antara lain : 4,4'-dihidroksi-2-metoksibenzofenon-6-O- β -D-glukopiranosida yang selanjutnya diberi nama mahkosida A, mangiferin, kaemferol-3-O- β -D-glukosida, asam dodekanoat, asam palmitat, etil stearat, sukrosa (3), dan 2,4'-dihidroksi-4-metoksibenzofenon-6-O- α -D-glukopiranosida (4). Isomer senyawa 2,4'-dihidroksi-4-metoksibenzofenon-6-O- α -D-glukopiranosida dalam bentuk β -D-glukopiranosida ditemukan dalam daun mahkota dewa (5) yang selanjutnya diberi nama phalerin dan juga dalam kulit batang mahkota dewa (6). Telah dilaporkan pula bahwa asam galat yang diisolasi dari buah mahkota dewa aktif menghambat proliferasi

sel kanker dan menginduksi apoptosis sel kanker esophageal TE-2 (5).

Sejak lima tahun terakhir ini oleh beberapa industri obat herbal, rajangan daging buah mahkota dewa kering telah dipasarkan sebagai ramuan obat tradisional untuk mengobati berbagai penyakit, khususnya kanker (1). Mahkota dewa sebagai bahan dasar ramuan obat perlu ditangani secara higienis dan aman. Teknik iradiasi gamma merupakan salah satu teknik pengawetan yang dapat menurunkan cemaran mikroba pada obat dan makanan, dan telah dimanfaatkan oleh beberapa industri obat herbal. Pada dosis yang tepat, iradiasi gamma dapat mengurangi jumlah cemaran mikroba sehingga dapat mempertahankan kualitas dan keamanan bahan simplisia. Penggunaan iradiasi gamma memiliki keunggulan, diantaranya mempunyai daya tembus tinggi, tidak menaikkan suhu bahan yang diproses, bahan dapat diiradiasi setelah dikemas, tidak meninggalkan residu dan ramah lingkungan (7,8).

Meskipun iradiasi gamma telah lama digunakan, namun pengaruh iradiasi terhadap aktivitas sitotoksitas zat aktif di dalam simplisia belum banyak dipelajari. Sterilisasi obat herbal menggunakan iradiasi

gamma dengan dosis 5 kGy telah direkomendasikan di Cina (9), sedang peneliti lain menyatakan bahwa iradiasi gamma dosis < 10 kGy dapat digunakan untuk mendekontaminasi mikroba dalam sampel herba (10). Charoen dan Aemsiri (11) melaporkan bahwa iradiasi dosis 6 kGy dapat mengeliminasi *Clostridium perfringens*, kapang dan khamir dalam teh herbal tanpa menyebabkan perubahan kadar polifenol.

Pada penelitian ini dipelajari pengaruh iradiasi gamma terhadap aktivitas sitotoksik simplisia daging buah mahkota dewa. Pada dosis optimum diharapkan senyawa yang berpotensi sebagai antikanker dalam daging buah mahkota dewa tidak rusak. Selain uji sitotoksik fraksi aktif terhadap sel leukemia L1210, dilakukan juga analisis kualitatif profil kromatogram dari kromatografi lapis tipis (KLT) dan kromatografi cair kinerja tinggi (KCKT) dari fraksi aktif daging buah sebelum maupun sesudah diiradiasi.

2. TATA KERJA

2.1. Bahan dan peralatan

Simplisia kering (kadar air 3,8%) yang digunakan pada penelitian ini adalah rajangan (kira-kira 0,5 cm) 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, HCl, serum sulfat (CeSO_4) 1 %, lempeng silika gel 60 F₂₅₄, silika gel 60 (70-230 mesh), akuabides, sel leukemia L1210, *RPMI medium-1640*, *fetal bovine serum* (FBS),

biru tripan 0,4 % dan nitrogen cair.

Peralatan yang digunakan adalah 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 Shimadzu-8345, evaporator, desikator, neraca analitik, lampu UV (λ 254 nm), inkubator CO₂, *Multiwell plate tissue's culture*, mikroskop, *haemocytometer Neubauer improved*, dan alat-alat gelas.

2.2. Iradiasi Sampel

Rajangan simplisia kering daging buah mahkota dewa (panjang rajangan \pm 0,5 cm) ditimbang sebanyak 12 kantong polietilen masing-masing 110 g, lalu ditutup rapat dengan *sealer*. Sampel diiradiasi dengan 2 ulangan menggunakan sumber radiasi ⁶⁰Co dengan dosis 5; 7,5; 10; 15; dan 20 kGy pada laju dosis 10 kGy/jam. Penentuan laju dosis dilakukan menggunakan dosimeter Fricke ($\text{G}[\text{Fe}^{3+}] = 15,6$).

2.3. Pengamatan Cemaran Mikroba

Setiap sampel yang telah diiradiasi dan kontrol masing-masing diambil 2 g untuk diamati jumlah cemaran mikroba. Pengamatan dilakukan dengan metode yang mengacu pada Standar Nasional Indonesia (SNI) (12) yaitu dengan menetapkan angka lempeng total (koloni/g) dan jumlah kapang dan khamir (koloni/g).

Cemaran mikroba dilakukan dengan metode yang mengacu pada Standar Nasional Indonesia (12) yaitu dengan menetapkan angka lempeng total (koloni/g) dan total kapang dan khamir (koloni/g).

2.4. Uji Sitotoksitas Ekstrak terhadap Sel Leukemia L1210

Dari setiap sampel yang telah diiradiasi dan kontrol diambil 100 g, kemudian dimaserasi 3 kali dengan pelarut etanol masing-masing 2 liter. Filtrat etanol yang diperoleh dipisahkan menggunakan rotavapor pada suhu lebih kurang 35°C hingga diperoleh ekstrak kental. Ekstrak kemudian dikeringkan menggunakan desikator oven pada suhu 40°C lalu ditimbang. Selanjutnya semua ekstrak diuji aktivitas sitotoksik terhadap sel leukemia L1210 dan dihitung IC₅₀ berdasarkan metode yang mengacu pada penelitian sebelumnya (6) dengan enam macam variasi konsentrasi, yaitu 0 (kontrol), 5, 10, 20, 40, dan 80 µg/ml dengan ulangan tiga kali. Masing-masing konsentrasi ditempatkan dalam *multiwell plate tissue culture* 24 sumuran yang berisi 1 ml suspensi sel leukemia L1210 (mengandung 2 x 10⁵ sel) dalam medium RPMI-1610, kemudian diinkubasi dalam incubator CO₂ 5% pada suhu 37°C selama 48 jam. Sebagai kontrol digunakan 1 ml suspensi sel dan ditambah 10 µl methanol yang merupakan pelarut sampel. Perhitungan sel yang masih hidup dilakukan menggunakan mikroskop dalam *haemocytometer Neubauer improved* (label 0,100 mm, luas 0,0025 mm²). Sel hidup dan sel mati dibedakan dengan cara menambahkan biru tripan, sel-sel yang hidup tidak terwarnai dan tampak transparan, sedangkan sel yang mati berwarna biru. Aktivitas sitotoksik yang merupakan kemampuan sampel uji dalam menghambat pertumbuhan sel dinyatakan dalam persentase (%) inhibisi berdasarkan

rumus:

$$\% \text{ inhibisi} = \frac{[\text{rerata sel dalam kontrol}]}{[\text{rerata sel dalam kontrol}] - [\text{rerata sel dalam sampel uji}]} \times 100\%$$

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 $y = a + bx$. Dengan memasukkan nilai $y = 5$ (probit dari 50%), maka nilai IC₅₀ yaitu konsentrasi zat uji yang dapat menginhibisi pertumbuhan sel sebesar 50% dapat ditentukan dengan mengkonversikan nilai log konsentrasi ke bentuk anti log.

2.5. Fraksinasi Ekstrak Etanol Sampel Kontrol dan Uji Sitotoksitas Fraksi terhadap Sel Leukemia L1210

Sebanyak 2 g ekstrak etanol dari sampel kontrol (sampel yang tidak diiradiasi) dicampur secara homogen dengan celite 545 (10 g) lalu dimasukkan ke dalam kolom dengan adsorben silika gel 60 ukuran 70-230 mesh, kemudian dilusi secara landaian (*gradient*) dengan *n*-heksan – etil asetat – metanol dengan perbandingan 1:0:0 sampai 0:0:1. Hasil pemisahan diperoleh 8 fraksi (Fr.1 sampai dengan Fr.8), setiap fraksi kurang lebih 150 ml kemudian dipisahkan, dikeringkan dan ditimbang. Selanjutnya kedelapan fraksi hasil fraksinasi diuji aktivitas sitotoksiknya terhadap sel leukemia L1210 dengan cara yang sama seperti pengujian terhadap ekstrak etanol dengan variasi konsentrasi: 1, 2, 4, 8, dan 16 µg/ml, kemudian nilai IC₅₀ ditentukan dengan cara yang sama seperti perhitungan nilai IC₅₀ pada ekstrak.

2.6. Fraksinasi Ekstrak Etanol Sampel yang diiradiasi dan Uji Sitotoksitas Fraksi terhadap Sel Leukemia L1210

Sebanyak 2 g ekstrak etanol dari sampel yang diiradiasi masing-masing dicampur secara homogen dengan *celite* 545 (10 g) lalu didifraksinasi dengan cara yang sama seperti pada fraksinasi terhadap ekstrak etanol sampel kontrol, diperoleh 8 fraksi (Fr.1 sampai dengan Fr.8). Uji aktivitas sitotoksik fraksi dari sampel yang diiradiasi hanya dilakukan terhadap fraksi yang memiliki aktivitas sitotoksik tertinggi pada pengujian terhadap fraksi-fraksi dari ekstrak etanol sampel kontrol yaitu fraksi Fr.3. Cara pengujian aktivitas sitotoksik terhadap sel leukimia L 1210 dan cara penentuan nilai IC_{50} sama seperti pada ekstrak etanol sampel kontrol.

2.7. Pemeriksaan Profil Kromatogram KLT dan KCKT

Untuk mengetahui profil kromatogram Fr.3, dilakukan pemeriksaan dengan kromatografi lapis tipis (KLT) dan kromatografi cair kinerja tinggi (KCKT) pada semua sampel. KLT dilakukan pada plat silika gel GF₂₅₄, fase gerak *n*-heksan – etil asetat (2:1), deteksi bercak dengan sinar UV 254 nm dan penampak bercak 1% serum sulfat dalam 10% H₂SO₄. Pada KCKT digunakan kolom C-18 dan eluen campuran metanol – akuabides (7:3) kecepatan alir 0,4 ml/menit, detektor UV pada 254 nm.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil pengamatan jumlah cemaran mikroba pada simplisia daging buah mahkota dewa yang telah diiradiasi dan kontrol ditunjukkan pada Tabel 1.

Tabel 1. Jumlah bakteri, kapang dan khamir yang ditemukan pada simplisia daging buah mahkota dewa pada berbagai dosis iradiasi gamma

Dosis Iradiasi (kGy)	Rerata jumlah bakteri *) (koloni/g)	Rerata jumlah kapang dan khamir *) (koloni/g)
0	4,45 x 10 ⁷	8,13 x 10 ⁶
5	0	0
7,5	0	0
10	0	0
15	0	0
20	0	0

*) Rerata dari dua ulangan, setiap ulangan dilakukan duplo

Tabel 2. Hasil ekstraksi dengan etanol terhadap rajangan simplisia daging buah mahkota dewa setelah iradiasi gamma

Dosis Iradiasi (kGy)	Warna*)	Bobot ekstrak etanol rerata**) (%)
0	Coklat tua	16,8 ^a
5	Coklat tua	17,8 ^a
7,5	Coklat tua	17,2 ^a
10	Coklat tua	16,7 ^a
15	Coklat tua	17,8 ^a
20	Coklat tua	18,2 ^a

*) dilihat secara visual; **) rerata dari 2 ulangan

Pemeriksaan terhadap serbuk simplisia yang diiradiasi dengan berbagai dosis dilakukan untuk mengetahui pengaruh iradiasi terhadap pertumbuhan mikroba pada serbuk daging buah mahkota dewa. Hasil pemeriksaan menunjukkan bahwa pada serbuk yang diiradiasi dengan dosis 5-20 kGy tidak ditemukan pertumbuhan bakteri, kapang maupun khamir. Pada kontrol ditemukan pertumbuhan bakteri sebanyak $4,45 \times 10^7$ koloni/g dan kapang khamir sebanyak $8,13 \times 10^6$ koloni/g. Iradiasi telah membunuh sel hidup mikroba di dalam serbuk sehingga tidak dapat membelah diri. Iradiasi sampai dosis 10 kGy yang setara dengan proses pasteurisasi digunakan untuk tujuan sanitasi, sedang iradiasi pada dosis > 10 kGy merupakan proses sterilisasi digunakan untuk membunuh sebagian besar mikroba yang ada (7).

Hasil ekstraksi dari 100 g serbuk daging buah mahkota dewa yang telah diiradiasi dengan dosis 5; 7,5; 10; 15 dan 20 kGy disajikan pada Tabel 2. Ekstrak etanol daging buah mahkota dewa secara visual berwarna coklat tua dan memiliki bobot ekstrak yang hampir sama dengan kontrol. Bobot ekstrak etanol dari simplisia radiasi dan yang tidak diiradiasi diperoleh seberat 16,7 g sampai dengan 18,2 g. Sitotoksisitas ekstrak dinyatakan dengan nilai IC_{50}

(*Inhibitor Concentration 50%*), yaitu konsentrasi zat uji yang dapat menghambat pertumbuhan sel sebesar 50%. Suatu ekstrak dikatakan aktif berpotensi sebagai antikanker bila nilai $IC_{50} \leq 50 \mu\text{g/ml}$ (14), semakin kecil nilai IC_{50} berarti semakin tinggi nilai aktivitas sitotoksiknya. Hasil uji aktivitas sitotoksik ekstrak etanol terhadap sel leukemia L1210 diperlihatkan pada Tabel 3.

Dari Tabel 3 terlihat bahwa dosis iradiasi makin besar, nilai IC_{50} makin meningkat. Berdasarkan uji anova satu arah menggunakan SPSS 16 pada taraf kepercayaan 95% ($\alpha = 0,05$), iradiasi sampai dosis 7,5 kGy tidak memberikan nilai IC_{50} bertambah atau sitotoksisitas menurun secara bermakna, tetapi, nilai IC_{50} makin bertambah secara bermakna setelah iradiasi pada dosis 10, 15 dan 20 kGy. Dari persentase kenaikan nilai IC_{50} terlihat bahwa kenaikan dosis iradiasi dari 0 hingga 20 kGy telah menaikkan nilai IC_{50} sebesar 69,8%. Nilai IC_{50} naik berarti sitotoksisitas menurun, hal ini diduga akibat adanya efek langsung iradiasi pada materi berupa ionisasi, semakin besar dosis yang diberikan akan semakin besar daya ionisasinya (7), sehingga menyebabkan sebagian senyawa aktif terurai.

Tabel 3. Sitotoksisitas ekstrak etanol daging buah mahkota dewa iradiasi terhadap sel leukemia L1210

Dosis iradiasi (kGy)	IC_{50} rerata* ($\mu\text{g/ml}$)	Kenaikan nilai IC_{50} (%)
0	12,6 ^a	-
5	14,1 ^{a,b}	11,9
7,5	15,1 ^{a,b}	19,8
10	17,3 ^{b,c}	37,3
15	19,9 ^{c,d}	57,9
20	21,4 ^d	69,8

**) rerata dari 2 ulangan, setiap ulangan dilakukan duplo*

Nilai IC_{50} naik berarti sitotoksitas menurun, hal ini diduga akibat adanya efek langsung iradiasi pada materi berupa ionisasi, semakin besar dosis yang diberikan akan semakin besar daya ionisasinya (7), sehingga menyebabkan sebagian senyawa aktif terurai. Meskipun sitotoksitas mengalami penurunan, tetapi penurunan yang diakibatkan tidak sampai melampaui batas suatu ekstrak dinyatakan tidak aktif, yaitu $IC_{50} = 50 \mu\text{g/ml}$ (14).

Hasil fraksinasi ekstrak etanol dari simplisia daging buah mahkota dewa yang tidak diiradiasi diperoleh 8 fraksi dengan warna bervariasi dari putih, kuning, coklat sampai coklat kehitaman dan persentase bobot fraksi disajikan pada Tabel 4.

Hasil uji sitotoksitas kedelapan fraksi menunjukkan bahwa fraksi-fraksi tersebut memiliki sitotoksitas terhadap sel leukemia L1210 dengan nilai $IC_{50} < 50 \mu\text{g/ml}$. Fraksi Fr. 3 mempunyai sitotoksitas paling tinggi dengan nilai $IC_{50} = 5,0 \mu\text{g/ml}$ diikuti Fr.7 (6,5 $\mu\text{g/ml}$), Fr.6 (7,2 $\mu\text{g/ml}$), Fr.8 (9,2 $\mu\text{g/ml}$), Fr.5 (10,5 $\mu\text{g/ml}$), Fr.4 (10,8 $\mu\text{g/ml}$), Fr.1 (12,6 $\mu\text{g/ml}$), dan Fr.2(16,1 $\mu\text{g/ml}$). Fraksi dengan nilai IC_{50} terendah yang berarti paling sitotoksik, yakni Fr. 3 dijadikan tolok

ukur untuk mempelajari pengaruh iradiasi terhadap simplisia daging buah yang diiradiasi. Hasil uji aktivitas Fr.3 dalam ekstrak etanol dari sampel kontrol dan sampel yang diiradiasi dengan dosis 5; 7,5; 10; 15; 20 kGy disajikan pada Tabel 5.

Hasil perhitungan nilai IC_{50} dan analisis dengan uji anova satu arah menggunakan SPSS 16 pada taraf kepercayaan 95% ($\alpha=0,05$) menunjukkan bahwa iradiasi sampai dosis 7,5 kGy tidak mempengaruhi sitotoksitas, tetapi iradiasi pada dosis 10 kGy, 15 kGy, dan 20 kGy telah menurunkan sitotoksitas sel leukemia L1210 secara bermakna yaitu kenaikan nilai IC_{50} mencapai $> 50\%$.

Jika dilihat dari presentase kenaikan nilai IC_{50} , kenaikan dosis iradiasi hingga 20 kGy dapat menaikkan nilai IC_{50} sebesar 72% atau menurunkan sitotoksitas. Hingga saat ini belum ada batasan nilai IC_{50} untuk menentukan aktivitas suatu fraksi, tetapi sebagai perkiraan berdasarkan aktivitas ekstrak ($IC_{50} < 50 \mu\text{g/ml}$) dan isolat ($IC_{50} < 4 \mu\text{g/ml}$) (14), maka suatu fraksi yang memiliki nilai $IC_{50} < 25 \mu\text{g/ml}$ dapat dipisahkan lebih lanjut untuk mendapatkan isolat aktif.

Tabel 4. Sitotoksitas fraksi-fraksi dari kromatograf ekstrak etanol daging buah mahkota dewa non radiasi terhadap pertumbuhan sel leukemia L1210

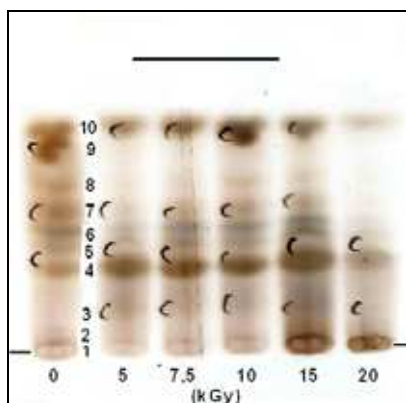
Konsentrasi ($\mu\text{g/ml}$)	Warna ^{*)}	Bobot fraksi (%)	IC_{50} rerata ^{**)} ($\mu\text{g/ml}$)
Fr. 1	Putih	0,1	12,6
Fr. 2	Kuning	0,9	16,1
Fr. 3	Kuning	3,1	5,0
Fr. 4	Kuning	1,9	10,8
Fr. 5	Kuning	18,8	10,5
Fr. 6	Kuning	11,3	7,2
Fr. 7	Coklat	54,0	6,5
Fr. 8	Coklat kehitaman	8,2	9,2

^{*)} Dilihat secara visual; ^{**)} Rerata dari 2 sampel dan 2 ulangan

Tabel 5. Sitotoksitas Fr.3 daging buah mahkota dewa iradiasi terhadap sel leukemia L1210

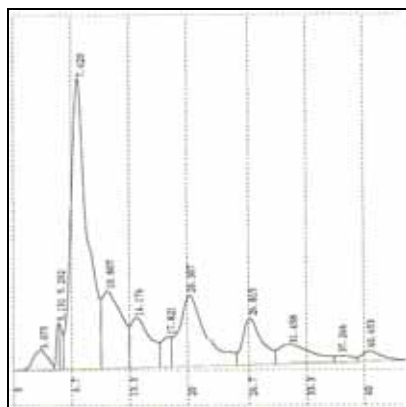
Dosis iradiasi (kGy)	IC ₅₀ rerata* ¹⁾ (µg/ml)	Kenaikan nilai IC ₅₀ (%)
0	5,0 ^a	-
5	6,6 ^a	32
7,5	7,2 ^a	44
10	8,1 ^b	62
15	8,2 ^b	64
20	8,6 ^b	72

*¹⁾ Rerata dari 2 ulangan dan setiap ulangan dilakukan duplo

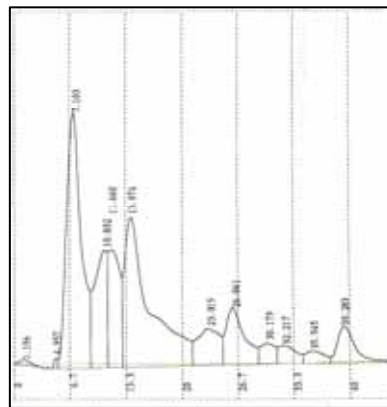


Fase gerak : *n*-heksan - AcOEt (2:1)
 Fase diam : silika gel GF₂₅₄
 Deteksi : sinar UV 254 nm
 Tanda (: terlihat pada UV 254 nm
 Penampak bercak : 1% Ce(SO₄)₂ dalam 10% H₂SO₄

Gambar 1. Kromatogram lapis tipis fraksi Fr.3



(a)



(b)

Gambar 2. Contoh kromatogram KCKT fraksi Fr.3: (a). kontrol dan (b). 5 kGy

Berdasarkan kromatogram KLT (Gambar 1), dalam Fr.3 dari sampel yang tidak diiradiasi sedikitnya mengandung 10 bercak dengan bercak 4 dan bercak 10 merupakan komponen mayor. Pada sampel yang diiradiasi dengan dosis 5; 7,5 dan 15 kGy, bercak nomor 7-9 menurun densitasnya secara visual, sedangkan pada

iradiasi dosis 20 kGy bercak 7-9 tidak terlihat lagi dan bercak 6 dan 10 menurun densitasnya (Gambar 1). Hal ini diduga karena efek langsung radiasi yang dapat menyebabkan materi terionisasi sehingga dapat mengalami perubahan baik secara fisika maupun secara kimia (11).

Tabel 6. Perbandingan luas puncak mayor dari fraksi Fr. 3 dari ekstrak etanol daging buah mahkota dewa iradiasi

Dosis iradiasi (kGy)	Luas puncak mayor rerata ^{*)} (%)	Penurunan luas puncak (%)
0	100,0	-
5	95,7	4,3
7,5	91,2	8,8
10	90,1	9,9
15	57,1	42,9
20	46,1	53,9

^{*)} Rerata dari 2 ulangan

Analisis komponen senyawa dalam fraksi Fr.3 untuk sampel yang diiradiasi dosis 5 sampai dengan 20 kGy menggunakan KCKT menunjukkan adanya satu puncak *major* dengan waktu retensi 7,42 menit. Gambar 2. Memperlihatkan contoh kromatogram KCKT fraksi Fr. 3 dari kontrol (tanpa iradiasi) dan yang diiradiasi dengan dosis 5 kGy. Perbandingan puncak *major* diperlihatkan pada Tabel 6. Dari Tabel 6 terlihat bahwa bertambahnya dosis iradiasi berakibat pada berkurangnya konsentrasi senyawa dalam puncak mayor. Meskipun demikian, penurunan cukup besar terjadi setelah iradiasi dengan dosis 15 kGy. Komponen puncak mayor belum diketahui struktur kimianya, karena itu perlu diisolasi untuk elusidasi struktur. Jika dibandingkan dengan penurunan sitotoksitas, terlihat bahwa puncak mayor bukan merupakan satu-satunya komponen aktif, karena iradiasi pada dosis 10 kGy sudah terjadi penurunan aktivitas sitotoksik ekstrak, tetapi ada senyawa-senyawa lain dalam simplisia yang saling bersinergi memberikan aktivitas yang berpotensi sebagai anti kanker. Oleh karena itu iradiasi untuk tujuan dekontaminasi mikroba dan pengawetan daging buah mahkota dewa disarankan antara 5 -10 kGy.

4. KESIMPULAN

Dosis iradiasi optimum untuk menghambat pertumbuhan serta membunuh semua bakteri dan kapang/khamir pada simplisia daging buah mahkota dewa *Phaleria macrocarpa* (Scheff.) Boerl tanpa menurunkan sitotoksitas terhadap sel leukemia L1210, adalah 5 kGy sampai 10 kGy. Dosis iradiasi > 10 kGy menyebabkan sitotoksitas ekstrak etanol terhadap sel leukemia L1210 menurun, tetapi penurunannya tidak melampaui batas suatu ekstrak dinyatakan tidak aktif. Analisis profil kromatogram dengan KCKT menunjukkan bahwa puncak mayor mengalami degradasi dengan penurunan intensitas sebanding dengan penambahan dosis iradiasi sampai dosis 20 kGy.

5. UCAPAN TERIMAKASIH

Penulis mengucapkan terimakasih kepada Sdr. Tjahyono, S.P. dan seluruh staf Kelompok Iradiator - PATIR-BATAN yang telah membantu melakukan iradiasi sampel sehingga penelitian ini dapat terlaksana dengan baik.

6. DAFTAR PUSTAKA

1. Harmanto N. Mahkota dewa: Obat pusaka para dewa. Cetakan ke-4,

- Jakarta: Agromedia Pustaka; 2005.
2. Lisdawati V. Buah mahkota dewa: Toksisitas, efek antioksidan dan efek antikanker berdasarkan uji penapisan farmakologi. [Cited 2007 July 30]. Available from: <http://www.mahkotadewa.com/indi/info/makalah/vivi201002.htm>.
 3. Zhang YB, Xu XJ, LIU HM. Chemical constituents from mahkota dewa, J of Asian Nat Prod Res 2006; 8(1-2):119-23.
 4. Tambunan RM dan Simanjuntak P. Penentuan struktur kimia antioksidan benzofenon glikosida dari ekstrak *n*-butanol buah mahkota dewa [*Phaleria macrocarpa* (Scheff.) Boerl.]. Majalah Farmasi Indonesia 2006; 17(4):184-9.
 5. Faried A, Kurnia D, Faried LS, Usman N, Miyazaki T, Kato H, Kuwano H. Anticancer effects of gallic acid isolated from Indonesia herbal medicine, *Phaleria macrocarpa* (Scheff.) Boerl on human cancer cell lines. Int J Oncology 2007; 30:605-13.
 6. Winarno H, Winarno EK. Benzophenone glucoside isolated from the ethyl acetate extract of the bark of *mahkota dewa* [*Phaleria macrocarpa* (Scheff.) Boerl]. Indo J Chem 2009; 9(1):142-5.
 7. Akhadi M. Pengantar Teknologi Nuklir. Jakarta: PT Rineka Cipta; 1997.
 8. Leswara ND. Radiofarmasi. Universitas Indonesia .Depok: Ari Cipta; 2005.
 9. Fang X, Wu J. Feasibility of sterilizing traditional Chinese medicines by gamma-irradiation. Rad Phys Chem 1998; 52,53-8.
 10. Chu PL, Cheng BS, Ho YL, Chou FI, Tseng YY, Lee TT, Chang YS. Gamma irradiation on microbial decontamination training for Chinese herbs paractioners, Committee on Chinese Medicine and Pharmacy, Department of Health, Taipei City, Taiwan. [cited 2009 November 27]. Available from: www.ccmp.gov.tw/en/research/result_detail.asp?
 11. Charoen S, Aemsiri J. Effects of gamma irradiation on microbiological and chemical quality of herbal teas. Proc. Int'l. Symp. on New Frontier of Irradiated Food and Non-Food Products. KMUTT, Bangkok; 2005.
 12. Anonim. Cara uji cemaran mikroba. SNI 01-2897. Jakarta: Badan Standarisasi Nasional-BSN; 1992.
 13. Winarno EK, Winarno H. Aktivitas sitotoksik fraksi-fraksi ekstrak etil asetat kulit batang mahkota dewa [*Phaleria macrocarpa* (Scheff.) Boerl] terhadap sel kanker manusia. Majalah Tanaman Obat 2008;13(45):120-7.
 14. Mans DRA, Rocha AB, Schwartzmann G. Anti-cancer drug discovery and development in Brazil: Targeted plant collection as a national strategy to acquire candidate anti-cancer compounds. The Oncologist 2000; 5(3):185-98.