



LEMBAGA PENELITIAN DAN PENGEMBANGAN UNIVERSITAS AHMAD DAHLAN

Jalan Gondosuli No. 1 Yogyakarta
Telepon/Faks. 0274-542886, e-mail: lpp@uad.ac.id
Website : www.lpp.uad.ac.id

SURAT PENUGASAN PELAKSANAAN PENELITIAN DANA DRPM KEMENRISTEK DIKTI TAHUN ANGGARAN 2016 Nomor : PPS-059/SP3/III/2016

Pada hari ini Rabu tanggal Enam belas bulan Maret tahun Dua ribu enam belas (16-03-2016), kami yang bertandatangan di bawah ini :

1. **Dr. Widodo, M.Si.** : Ketua Lembaga Penelitian dan Pengembangan (LPP) Universitas Ahmad Dahlan (UAD), bertindak atas nama Rektor UAD yang selanjutnya dalam Surat Perjanjian ini disebut sebagai **PIHAK PERTAMA**;
2. **Dr. Laela Hayu Nurani, M.Si., Apt.** : Dosen Universitas Ahmad Dahlan, dalam hal ini bertindak sebagai pengusul dan Ketua Pelaksana Penelitian Sumberdana DRPM Kemenristek Dikti Tahun 2016 untuk selanjutnya disebut **PIHAK KEDUA**.

Perjanjian penugasan ini berdasarkan pada Surat Perjanjian Pelaksanaan Hibah Penelitian Bagi Dosen Perguruan Tinggi Swasta Kopertis Wilayah V Tahun Anggaran 2016, Nomor: 011/HB-LIT/III/2016, tanggal 15 Maret 2016.

PIHAK PERTAMA dan PIHAK KEDUA, secara bersama-sama bersepakat mengikatkan diri dalam Surat Penugasan Pelaksanaan Penelitian (SP3) Dana Direktorat Riset dan Pengabdian Masyarakat (DRPM) Kemenristek Dikti Tahun Anggaran 2016 dengan ketentuan dan syarat-syarat sebagaimana diatur dalam pasal-pasal sebagai berikut.

Pasal 1

- (1) PIHAK PERTAMA memberi tugas kepada PIHAK KEDUA, dan PIHAK KEDUA menerima tugas tersebut untuk melaksanakan **Penelitian Tim Pascasarjana (PPS)** tahun 2016 dengan judul **Potensi Efek Antikanker Kombinasi Fraksi Etil Asetat Akar Pasak Bumi (Eurycoma longifolia Jack) Dengan Obat Kemoterapi Kanker**.
- (2) PIHAK KEDUA bertanggung jawab penuh atas pelaksanaan administrasi dan keuangan atas pekerjaan sebagaimana dimaksud pada ayat (1) dan berkewajiban menyerahkan semua bukti pengeluaran serta dokumen pelaksanaan lainnya dalam bendel laporan yang tersusun secara sistematis kepada PIHAK PERTAMA.
- (3) Pelaksanaan penelitian sebagaimana dimaksud Pasal 1 ayat (1) di atas didanai dari DIPA DRPM Kemenristek Dikti Nomor: DIPA-042.06.0.1.401516/2016; tanggal 7 Desember 2015.

Pasal 2

- (1) PIHAK PERTAMA menyerahkan dana penelitian sebagaimana dimaksud dalam Pasal 1 sebesar **Rp 110,000,000 (Seratus sepuluh juta rupiah)** yang berasal dari DIPA DRPM Kemenristek Dikti Nomor: DIPA-042.06.0.1.401516/2016; tanggal 7 Desember 2015.
- (2) Pembayaran dilakukan dengan transfer melalui rekening sebagai berikut.
Nama pemilik rekening : LAELA HAYU NURANI
Nomor rekening : 801.211.008064
Nama Bank : BPD SYARIAH

- (3) Dana Penugasan Pelaksanaan Penelitian sebagaimana dimaksud pada ayat (1) dibayarkan oleh PIHAK PERTAMA kepada PIHAK KEDUA secara bertahap dengan ketentuan sebagai berikut:
- a. Pembayaran Tahap Pertama sebesar 70% dari total bantuan dana kegiatan selambat-lambatnya satu pekan setelah PIHAK PERTAMA menerima dana penelitian dari Kopertis Wilayah V DIY dan PARA PIHAK menandatangani SP3 ini.
 - b. Pembayaran Tahap Kedua sebesar 30% dari total dana dibayarkan setelah PIHAK PERTAMA telah menerima transfer dana dari Kopertis Wilayah V DIY dan PIHAK KEDUA menyelesaikan seluruh administrasi Laporan Kemajuan dengan mengunggah ke SIMLITABMAS berkas-berkas (dalam format .pdf) berupa:
 1. Catatan Harian dan Laporan Penggunaan Keuangan 70% yang telah dilaksanakan;
 2. Laporan Kemajuan Pelaksanaan Penelitian.Pengunggahan paling lambat tanggal 13 Juli 2016.
 - c. PIHAK KEDUA berkewajiban menyerahkan berkas/dokumen kepada PIHAK PERTAMA dalam bentuk *hardcopy* sebanyak 1 (satu) eksemplar dan dalam bentuk *softcopy* sebanyak 1 (satu) keping CD kepada PIHAK PERTAMA paling lambat tanggal 13 Juli 2016 berupa:
 1. Laporan Kemajuan Pelaksanaan Penelitian [ASLI]; dilengkapi dengan:
 2. Rekapitulasi Laporan Penggunaan Keuangan 70% [ASLI];
 3. Salinan bukti pengeluaran dana 70% yang sah;
 4. Berita Acara Serah Terima Laporan Kemajuan Pelaksanaan;
 5. Berita Acara Serah Terima Laporan Penggunaan Keuangan 70%;

Pasal 3

- (1) PIHAK KEDUA berkewajiban menindaklanjuti dan mengupayakan hasil Program Penelitian Desentralisasi Dikti berupa hak kekayaan intelektual dan atau publikasi ilmiah sesuai dengan luaran yang dijanjikan pada proposal.
- (2) Perolehan hasil sebagaimana dimaksud pada ayat (1) dimanfaatkan sebesar-besarnya untuk pelaksanaan Tri Dharma Perguruan Tinggi.
- (3) PIHAK KEDUA berkewajiban melaporkan perkembangan perolehan hasil sebagaimana dimaksud pada ayat (1) kepada PIHAK PERTAMA.

Pasal 4

- (1) PIHAK PERTAMA melakukan Monitoring dan Evaluasi Internal (Monevin) terhadap kemajuan pelaksanaan penelitian sebelum pelaksanaan monitoring dan evaluasi eksternal yang dilakukan secara terpusat oleh DRPM Kemenristek Dikti.
- (2) Jadwal pelaksanaan Monev Terpusat (eksternal) mengikuti jadwal dari DRPM Kemenristek Dikti.

Pasal 5

- (1) PIHAK KEDUA berkewajiban menyelesaikan seluruh pekerjaan penelitian yang DIBUKTIKAN dengan PENGUNGGAHAN pada SIM-LITABMAS berkas-berkas:
 - a. Catatan harian (lanjutan) dan Penggunaan Dana 30% paling lambat tanggal 12 Oktober 2016
 - b. Laporan Hasil Penelitian (Laporan Tahunan atau Laporan Akhir) (file pdf);
 - c. Laporan Keuangan 100%;
 - d. Capaian Hasil; Poster, Artikel Ilmiah; dan Profile Penelitian.Butir a, b, c, dan d paling lambat diunggah ke SIM-LITABMAS pada tanggal 29 Oktober 2016.
- (2) PIHAK KEDUA berkewajiban MENYERAHKAN seluruh dokumen pekerjaan penelitian kepada PIHAK PERTAMA berupa:
 - a. Laporan Hasil Penelitian [ASLI];
 - b. Laporan Keuangan 100%; dilengkapi dengan bukti pengeluaran yang sah [ASLI];
 - c. Capaian Hasil; Poster, Artikel Ilmiah; dan Profile Penelitian;
 - d. Surat Pernyataan telah menyelesaikan seluruh pekerjaan penelitian;
 - e. Berita Acara Serah Terima Laporan Penelitian;
 - f. Berita Acara Serah Terima Laporan Keuangan 100%.

Berkas-berkas tersebut dijilid dalam satu kesatuan dokumen dalam bentuk *hardcopy* sebanyak 1 (satu) eksemplar dan dalam bentuk *softcopy* sebanyak 1 (satu) keping CD. Penggandaan berkas laporan lengkap disesuaikan dengan kebutuhan oleh PIHAK KEDUA.

- (3) PIHAK KEDUA berkewajiban mengirimkan 1 (satu) eksemplar Laporan Hasil Penelitian kepada:
- Perpustakaan Nasional RI, Jl. Salemba Raya 28A, Jakarta 10002;
 - Pusat Dokumentasi Ilmiah Indonesia (PDII), Jl. Gatot Subroto, Jakarta;
 - Bappenas c.q. BIRO APKO, Jl. Suropati No. 2 Jakarta; dan
 - Perpustakaan Program Studi peneliti bersangkutan.
- Bukti pengiriman dan/atau tanda terima Laporan Akhir Hasil Penelitian disimpan oleh kepada PIHAK PERTAMA dan salinannya diserahkan kepada PIHAK KEDUA.
- (4) Penulisan Laporan Hasil Penelitian sesuai ketentuan Buku Panduan Pelaksanaan Penelitian dan Pengabdian Kepada Masyarakat di Perguruan Tinggi Edisi X Tahun 2016:
- Bentuk/ukuran kertas kuarto;
 - Warna cover (d disesuaikan dengan ketentuan yang ditetapkan);
 - Di bawah bagian kulit muka (*cover*) ditulis:

**Dibiayai oleh Direktorat Riset dan Pengabdian Kepada Masyarakat
Kementerian Riset, Teknologi dan Pendidikan Tinggi
sesuai dengan Surat Perjanjian Pelaksanaan Hibah Penelitian
Nomor: 011/HB-LIT/III/2016 Tanggal 15 Maret 2016**

- (5) PIHAK KEDUA berkewajiban mengembalikan sisa dana yang tidak dibelanjakan kepada PIHAK PERTAMA untuk disetor ke Kas Negara. Bukti pengembalian dana yang telah divalidasi oleh KPPN diserahkan kepada PIHAK PERTAMA dan salinannya disimpan oleh PIHAK KEDUA.

Pasal 6

- Apabila PIHAK KEDUA selaku Ketua Pelaksana sebagaimana dimaksud pada Pasal 1 tidak dapat melaksanakan penelitian ini, maka PIHAK KEDUA wajib mengusulkan pengganti ketua pelaksana yang merupakan salah satu anggota tim kepada PIHAK PERTAMA yang memenuhi syarat.
- Apabila PIHAK KEDUA tidak dapat melaksanakan tugas dan tidak ada pengganti ketua sebagaimana dimaksud dalam Pasal 1, maka PIHAK KEDUA harus mengembalikan dana kepada ke Kas Negara melalui mekanisme yang berlaku.
- Bukti setor sebagaimana dimaksud pada ayat (2) diserahkan kepada PIHAK PERTAMA dan salinannya disimpan oleh PIHAK KEDUA.

Pasal 7

- Apabila sampai dengan batas waktu yang telah ditetapkan untuk melaksanakan penelitian telah berakhir, PIHAK KEDUA belum menyelesaikan tugasnya dan atau terlambat mengirim laporan Kemajuan dan atau terlambat mengirim laporan akhir, maka PIHAK KEDUA dikenakan sanksi denda sebesar 1‰ (satu permil) setiap hari keterlambatan sampai dengan setinggi-tingginya 5% (lima persen), dihitung dari tanggal jatuh tempo sebagaimana tersebut dalam SP3 ini.
- Denda sebagaimana dimaksud pada ayat (3) disetorkan ke Kas Negara oleh PIHAK KEDUA.
- Bukti setor denda yang telah divalidasi oleh KPPN setempat diserahkan kepada PIHAK PERTAMA dan salinannya disimpan PIHAK KEDUA.

Pasal 8

- Apabila di kemudian hari terbukti bahwa judul sebagaimana dimaksud pada Pasal 1 ditemukan adanya duplikasi dengan penelitian lain dan/atau ditemukan adanya ketidakjujuran/itikad kurang baik yang tidak sesuai dengan kaidah ilmiah, maka kegiatan penelitian tersebut dinyatakan batal dan PIHAK KEDUA wajib mengembalikan seluruh dana yang telah diterima kepada Kas Negara melalui mekanisme yang berlaku.
- Bukti setor sebagaimana dimaksud pada ayat (1) disimpan oleh kepada PIHAK PERTAMA dan salinannya disimpan PIHAK KEDUA.

Pasal 9

- Hal-hal dan atau segala sesuatu yang berkenaan dengan kewajiban pajak berupa PPN dan/atau PPh menjadi tanggungjawab PIHAK KEDUA dan harus dibayarkan ke Kantor Pelayanan Pajak (KPP) setempat atau tempat lain yang ditunjuk pemerintah.

- (2) Besarnya pajak yang harus dibayarkan sesuai dengan ketentuan Undang-undang dan Peraturan yang berlaku.

Pasal 10

- (1) Hak atas kekayaan intelektual yang dihasilkan dari pelaksanaan penelitian ini diatur dan dikelola sesuai dengan peraturan dan perundang-undangan yang berlaku.
- (2) Hasil penelitian berupa peralatan dan/atau alat yang dibeli dari kegiatan ini adalah milik Negara yang dapat dihibahkan kepada institusi/lembaga/masyarakat melalui Surat Keterangan Hibah.

Pasal 11

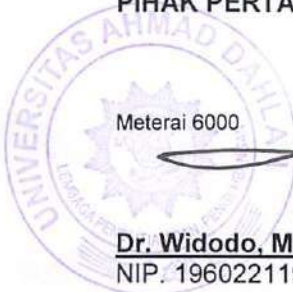

- (1) Apabila terjadi perselisihan antara PIHAK PERTAMA dan PIHAK KEDUA dalam pelaksanaan penugasan ini akan dilakukan penyelesaian secara musyawarah dan memilih Pengadilan Negeri Yogyakarta apabila tidak tercapai penyelesaian secara musyawarah.
- (2) Hal-hal yang belum diatur dalam perjanjian ini diatur kemudian oleh kedua belah pihak.

Pasal 12

- (1) Surat Penugasan Pelaksanaan Penelitian (SP3) ini dibuat rangkap 2 (dua) dan bermaterai cukup sesuai dengan ketentuan yang berlaku.
- (2) Pembiayaan materai menjadi tanggung jawab PIHAK KEDUA.

PIHAK PERTAMA,

PIHAK KEDUA,


Meterai 6000

Dr. Widodo, M.Si.
NIP. 19602211987091001


Dr. Laela Hayu Nurani, M.Si., Apt.
NIP/NIY: 60990195

Kode/Nama Rumpun Ilmu: 402/Farmakologi dan Farmasi Klinik

**LAPORAN AKHIR
PENELITIAN TIM PASCASARJANA**



**POTENSI EFEK ANTIKANKER KOMBINASI FRAKSI ETIL ASETAT AKAR
PASAK BUMI (*Eurycoma longifolia* Jack) DENGAN OBAT KEMOTERAPI
KANKER**

TIM PENGUSUL

Dr. Laela Hayu Nurani, M.Si., Apt	NIDN0520097501
Prof. Dr. Achmad Mursyidi, M.Sc., Apt	NIDN0008084404
Drh. Sitarina Widyarini, MP.,Ph.D	NIDN0016096602

UNIVERSITAS AHMAD DAHLAN

November, 2015

HALAMAN PENGESAHAN

HALAMAN PENGESAHAN PENELITIAN TIM PASCASARJANA

Judul Kegiatan : POTENSI EFEK ANTIKANKER KOMBINASI FRAKSI ETIL ASETAT AKAR PASAK BUMI (*Eurycoma longifolia* Jack) DENGAN OBAT KEMOTERAPI KANKER

Kode>Nama Rumpun Ilmu : 402 / Farmakologi dan Farmasi Klinik

Bidang Unggulan PT : Kesehatan

Topik Unggulan : Aktivitas dan toksisitas

Ketua Peneliti

A. Nama Lengkap : Dr. LAELA HAYU NURANI M.Si., Apt.
B. NIDN : 0520097501
C. Jabatan Fungsional : Lektor
D. Program Studi : Farmasi
E. Nomor HP : 08562863116
F. Surel (e-mail) : laelafarmasi@yahoo.com

Anggota Peneliti (1)

A. Nama Lengkap : ACHMAD MURSYIDI
B. NIDN : 0008084404
C. Perguruan Tinggi : Universitas Ahmad Dahlan

Anggota Peneliti (2)

A. Nama Lengkap : SITARINA WIDYARINI
B. NIDN : 0016096602
C. Perguruan Tinggi : Universitas Gadjah Mada

Lama Penelitian Keseluruhan : 3 Tahun

Penelitian Tahun ke : 2

Biaya Penelitian Keseluruhan : Rp 374.760.000,00

Biaya Tahun Berjalan : - diusulkan ke DIKTI Rp 124.930.000,00
- dana internal PT Rp 0,00
- dana institusi lain Rp 0,00
- inkind sebutkan



Dr. Dyah Ariyani Permatasari, M.Si., Ph.D., Apt.
NIP/NIK 0530047601



Mengesahkan,
Ketua RPPM UAD

(Dr. Winda, M.T)

NIP/NIK 196002211987091001

Yogyakarta, 4 - 11 - 2015.

Ketua Peneliti,

(Dr. LAELA HAYU NURANI M.Si., Apt.)
NIP/NIK60990195



**UNIVERSITAS AHMAD DAHLAN
PERGURUAN TINGGI MUHAMMADIYAH
PROGRAM PASCASARJANA**

Jl. Prof. Dr. Soepomo, Janturan, Yogyakarta 55164, Telp. (0274) 370141

**SURAT PERNYATAAN
LAPORAN KEMAJUAN PELAKSANAAN HIBAH PENELITIAN
DESENTRALISASI TAHUN ANGGARAN 2015**

Yang bertandatangan di bawah ini, saya:

Nama : Dr. Laela Hayu Nurani, M.Si., Apt
Jabatan : Dosen/Peneliti
Skim : Penelitian Tim Pascasarjana
Judul : Potensi Efek Kanker Kombinasi Fraksi Etil Asetat Akar Pasak Bumi
(*Eurycoma longifolia* Jack) Dengan Obat Kemoterapi Kanker

Dengan ini menyatakan bahwa, saya telah melaksanakan penugasan penelitian dan telah menyusun Laporan Kemajuan Pelaksanaan Penelitian Desentralisasi Dikti Tahun Anggaran 2015 sesuai dengan Surat Penugasan Pelaksanaan Penelitian (SP3) Desentralisasi Dikti Tahun Anggaran 2015 Nomor: 011/HB-LIT/III/2015 tanggal 25 Maret 2015.

Demikian Pernyataan ini saya buat untuk dapat dipergunakan sebagaimana mestinya.

Yogyakarta, 5 November 2015

Ketua Peneliti,

Mengetahui
Dekan



Dr. Dyan Asyari P., M.Si, Ph.D., Apt

Dr. Laela Hayu Nurani, M.Si., Apt
NIY. 60990195

Mengetahui
Ketua Lembaga Penelitian dan Pengembangan
Universitas Ahmad Dahlan,



Dr. Widodo, M.Si.

NIY. 10012211987091001



BERITA ACARA PENYELESAIAN PEKERJAAN (BAPP)

Nomor: BAPP-xxx/SP3.DD/XI/2015

Pada hari ini Kamis, tanggal lima bulan November tahun Dua ribu lima belas (05-11-2015), kami yang bertandatangan di bawah ini:

I.	N a m a	Dr. Widodo, M.Si.
	Jabatan	Kepala Lembaga Penelitian dan Pengembangan Universitas Ahmad Dahlan (LPP UAD).
	Selanjutnya disebut PIHAK PERTAMA	
II.	Nama	Dr. Laela Hayu Nurani, M.Si., Apt
	Jabatan	Dosen/Peneliti
	Skim	Penelitian Tim Pascasarjana
	Judul Penelitian	Potensi Efek Kanker Kombinasi Fraksi Etil Asetat Akar Pasak Bumi (<i>Eurycoma longifolia</i> Jack) Dengan Obat Kemoterapi Kanker
	Selanjutnya disebut PIHAK KEDUA	

1. Dengan ini **PIHAK KEDUA** menyatakan telah menyelesaikan seluruh pekerjaan yang telah dtugaskan oleh **PIHAK PERTAMA** berupa Penelitian Desentralisasi Dikti Tahun Anggaran 2015 sesuai dengan Surat Penugasan Pelaksanaan Penelitian (SP3) Desentralisasi Dikti Tahun Anggaran 2015 Nomor: 011/HB-LIT/III/2015 tanggal 25 Maret 2015.
2. **PIHAK PERTAMA** menerima hasil pekerjaan yang telah diselesaikan oleh **PIHAK KEDUA** sebagaimana tersebut di atas.


PIHAK PERTAMA,

Dr. Widodo, M.Si.
NIP. 19602211987091001

Yogyakarta, 5 November 2015

PIHAK KEDUA,


Dr. Laela Hayu Nurani, M.Si., Apt
NIY. 60990195

BERITA ACARA
SERAH TERIMA LAPORAN PENGGUNAAN KEUANGAN 100%
HIBAH DESENTRALISASI PENELITIAN
TAHUN 2015

Pada hari ini **Kamis** tanggal **Lima** bulan **Nopember** tahun **Dua ribu lima belas** (5-11-2015), bertempat bertempat di Kantor Lembaga Penelitian dan Pengembangan Universitas Ahmad Dahlan (LPP UAD), Jalan Gondosuli No. 1 Yogyakarta telah diadakan serah terima Laporan Penggunaan Keuangan 100% Hibah Desentralisasi Penelitian Dikti Tahun Anggaran 2015 sebagai berikut.

1. Nama : **Dr. Widodo, M.Si.**
Jabatan : Kepala Lembaga Penelitian dan Pengembangan (LPP)
Universitas Ahmad Dahlan

Selanjutnya disebut sebagai **PIHAK PERTAMA**

2. Nama : **Dr. Laela Hayu Nurani, M.Si.,Apt**
Jabatan : Dosen/Peneliti
Skim : Penelitian Tim Pascasarjana
Judul Penelitian : Potensi Efek Kanker Kombinasi Fraksi Etil Asetat Akar
Pasak Bumi (*Eurycoma longifolia* Jack) Dengan Obat
Kemoterapi Kanker

Selanjutnya disebut sebagai **PIHAK KEDUA**

PIHAK KEDUA telah menyerahkan Laporan Penggunaan Keuangan 100% Hibah Penelitian Desentralisasi Dikti Tahun Anggaran 2015 dari **PIHAK KEDUA**, dan **PIHAK KEDUA telah menerima** berkas tersebut sesuai dengan Surat Penugasan Pelaksanaan Penelitian (SP3) Desentralisasi Dikti Tahun Anggaran 2015 Nomor: 011/HB-LIT/III/2015 tanggal 25 Maret 2015 sebanyak 7 (tujuh) eksemplar.

Demikian Berita Acara ini dibuat untuk dapat dipergunakan sebagaimana mestinya.



PIHAK KEDUA
Ketua Peneliti,



Dr. Laela Hayu Nurani, M.Si.,Apt
NIY. 60990195

RINGKASAN

Masalah atau kesenjangan yang akan diatasi: Insidensi kanker payudara meningkat setiap tahun, dengan angka keterjadian 170-190 kasus baru tiap 100.000 penduduk per tahun. Upaya pengatasan dengan kemoterapi merupakan pilihan utama walaupun terdapat kelemahan resistensi yang ditimbulkan. Terapi dengan obat herbal sering dilakukan namun sulit untuk dapat masuk dalam sistem pengobatan herbal. Atas dasar itu maka perlu kombinasi antara obat herbal dan obat sintesis untuk mengatasi resistensi dan aplikasi penggunaannya.

Drug of choice untuk kanker payudara adalah doxorubicin yang tentunya juga berefek pada sel normal dan adanya resistensi yang ditimbulkan. Eurycomanon (isolat akar pasak bumi) mempunyai aktivitas menurunkan CD-4 dan CD-8 yang pada akhirnya dapat menurunkan resistensinya. Namun demikian perlu penelitian *in vivo* untuk melihat efek sinergisme dari campuran fraksi yang mengandung eurycomanon terhadap perbaikan efek yang ditimbulkan, penurunan toksisitasnya (genotoksik), serta efek kliniknya terhadap manusia.

Tujuan Jangka panjang: Tujuan umum penelitian ini adalah mendapatkan fitofarmaka *E.longifolia* sebagai agen ko-kemoterapi dengan mekanisme kerja definitif secara molekuler untuk kanker payudara.

Target khusus yang ingin dicapai: Penelitian ini bertujuan, pada **tahun pertama**, mengkaji (1) standardisasi senyawa aktif, (2) efek sinergisme campuran fraksi etil asetat dengan doxorubicin terhadap kenaikan aktivitas daya hambat pertumbuhan sel kanker payudara, (3) mekanisme molekuler secara *in vitro* terhadap ekspresi protein yang berperan dalam antiangiogenesis, antiproliferasi, apoptosis dan immunomodulator (VEGF, COX-2, p53, BCl-2, Caspase-3, Caspase-8, IL-10, IL-14 dan MHC) hasil tahun pertama telah deseminasikan pada Seminar Internasional BPN 4 April 2014 dengan judul *Screening Active Fraction of Ethanolic Extract of Pasak Bumi (Eurycoma longifolia Jack) Root as Antioxidant* dan dibuatnya dua buku ajar Biologi Sel serta Kanker dan Karsinogenesis. Publikasi dilakukan pada Jurnal Farmasiana dengan judul Uji Genotoksik Fraksi Etil Asetat Akar Pasak Bumi terhadap Ekspresi Gen COX-1 dan COX-2 pada sel T47D dan MCF-7, dan pada **tahun kedua:** (1) uji aktivitas ko kemoterapi serta mekanisme molekulernya secara terhadap ekspresi protein yang berperan dalam antiangiogenesis, antiproliferasi, dan apoptosis (VEGF, COX-2, p53, BCl-2, Caspase-3, Caspase-8, IL-10, IL-14 dan MHC) *in vivo*, serta (2) genotoksik kombinasi fraksi etil asetat akar pasak bumi dan doxorubicin terhadap hewan coba, dan pada **tahun ketiga:** (1) diperoleh sediaan akar pasak bumi, serta (2) dilakukan uji klinik sehingga diperoleh fitofarmaka.

Metode yang akan dipakai: Metode yang akan dipakai pada **tahun pertama**, (1) dilakukan ekstraksi, fraksinasi, isolasi, dan identifikasi senyawa aktif kuasinoid pada fraksi etil asetat serta (2) uji sitotoksitas dan antiproliferatif pada sel kanker payudara MCF-7 dan T47D dalam bentuk tunggal dan kombinasi dengan doxorubicin. Mekanisme molekuler diamati dengan pengujian antikarsinogenesis melalui antiangiogenesis terhadap antiangiogenesis, antiproliferasi, dan apoptosis (VEGF, COX-2, p53, dan BCl-2) pada sel kanker payudara MCF-7 dan T47D. **Tahun kedua**, dilakukan (1) Metode imunohistokimia terhadap ekspresi protein yang terlibat dalam angiogenesis, antiproliferasi, dan apoptosis (VEGF, COX-2, p53, dan BCl-2), (2) uji genotoksik dengan menggunakan metode MNCPE dan perhitungan mitotic index dengan fluometry dan dianalisis dengan program Modfit LT 3.0. **Tahun ketiga**, (1) Metode granulasi untuk mendapat sediaan, serta (2) uji klinik pada manusia sehat dan sakit.

Key words: Akar pasak bumi, ko-kemoterapi, mekanisme molekuler

PRAKATA

Puji dan syukur dipanjatkan kehadirat Allah swt sehingga laporan akhir penelitian Potensi Efek Antikanker Kombinasi Fraksi Etil Asetat Akar Pasak Bumi (*Eurycoma longifolia Jack*) dengan Obat Kemoterapi Kanker. Penelitian ini merupakan penelitian penelusuran senyawa aktif yang terdapat dari fraksi etil asetat akar pasak bumi yang memiliki efek ko-kemoterapi. Hasil yang diperoleh dari penelitian ini secara keilmuan adalah memperoleh sediaan fraksi etil asetat sebagai ko-kemoterapi dengan mekanisme molekuler. Hasil program kegiatan ini adalah mempercepat lulusan farmasi S2 yang mengikuti program ini. Pada tahun pertama ada 7 mahasiswa yang terlibat, 3 sudah ujian tesis, 3 sedang mengajukan ujian dan 1 masih revisi. Pada tahun kedua, ada 5 mahasiswa S2 yang akan seminar proposal pada bulan september 2015 (pada semester 2). Direncanakan februari 2016 para mahasiswa tersebut sudah lulus dan akan dimasukkan lagi enam mahasiswa di tahun ketiga nanti.

Pada kesempatan ini kami mengucapkan terima kasih kepada DIKTI melalui pendanaan program hibah tim pascasarjana, yang telah membiayai penelitian hibah tim pascasarjana tahap kedua ini. Semoga penelitian ini tidak berhenti sampai disini, tapi dapat dilanjutkan untuk dibentuk menjadi suatu formulasi. Rasa terimakasih kami sampaikan pula kepada LPP UAD yang telah memfasilitasi pengadaan, pengiriman proposal, dan memberi fasilitas kemudahan dalam menyelesaikan program ini.

Akhir kata, kami menyadari masih banyaknya keterbatasan dalam hasil penelitian ini yang diakibatkan karena berbagai kendala yang harus dilalui dalam pelaksanaannya. Sehubungan dengan hal tersebut kami siap menerima masukan dan sarana untuk kesempurnaan penelitian ini.

Yogyakarta, November 2015

Tim Pelaksana Peneliti

DAFTAR ISI

DAFTAR TABEL

DAFTAR GAMBAR

DAFTAR LAMPIRAN

BAB 1. PENDAHULUAN

3.1. Latar Belakang dan Permasalahan yang Akan Diteliti

Kanker payudara merupakan keganasan yang sering ditemukan pada wanita, dengan insiden sebesar 20% dari seluruh keganasan (Jemal *et al.*, 2008). Pengobatan kanker payudara selama ini dengan kemoterapi, pembedahan, serta radiasi. Kelemahan agen kemoterapi yang banyak digunakan dalam terapi kanker juga membunuh sel kanker namun juga bersifat toksik pada sel normal (Viele, 2007). Hal ini mengharuskan pemikiran dosis agen kemoterapi (yang sering digunakan untuk kanker payudara adalah doxorubicin) harus ditekan. Penambahan ko-kemoterapi merupakan pilihan yang tepat untuk mengatasi hal ini (Diaz-Montero *et al.*, 2009).

Akar pasak bumi mempunyai potensi yang besar sebagai antikanker (Tee *et al.*, 2007) dan berpotensi sebagai ko-kemoterapi kanker payudara (Nurani, *et al.*, 2011). Ekstrak akar pasak bumi terstandar juga mengurangi keparahan kanker testis dan menurunkan konsentrasi testosterone pada tikus (Widyarini, 2012) Ekstrak etanol akar pasak bumi secara tunggal memberikan landasan ilmiah dalam penekanan terjadinya tumor. Namun demikian, penggunaan secara formal mengalami kendala karena di rumah sakit sudah ada protap tertentu dalam pengobatan kanker. Pemikiran pembuatan ko kemoterapi mendekatkan hasil ilmiah pada aplikasi kepada pasien (Mok *et al.*, 2007).

Mekanisme antikanker payudara dapat melalui target hormonal (direpresentasikan dengan *estrogen receptor*) dan target non hormonal. Target non hormonal diarahkan pada pengaturan sinyal transduksi, regulator daur sel dan induksi apoptosis dan pengaturan angiogenesis (Eyler and Rich, 2008). Pengkajian mekanisme tersebut dapat melalui metode *in vitro* maupun *in vivo*. Gen yang juga berpengaruh adalah terjadinya mutasi pada gen BCL-2, p53, COX-1, COX-2, VEGF, Caspase-3, Caspase-8, IL-10, IL-14 dan MHC (Anai *et al.*, 2007; Goossens *et al.*, 2007; Soussi and Wiman, 2007). Mekanisme apoptosis diamati dari hasil uji pada Caspase-3, Caspase-8, p53 dan BCL-2. Secara *in vitro*, penggunaan sel T47D dan sel MCF7 terpilih karena merupakan sel kanker payudara dengan karakteristik yang dapat memberikan mekanisme secara menyeluruh (Covaleda *et al.*, 2008; Wickramasinghe *et al.*, 2009). Peningkatan sistem imun dilakukan dengan cara mengkaji ekspresi IL-10, IL-14 dan MHC pada sel limpa tikus SD. Hasil pengujian menunjukkan bahwa pelarut yang optimal adalah fraksi etil asetat dengan standar

eurycomanon. Hasil ini sudah dipublikasikan dideseminasi Seminar Internasional dengan judul *Screening Active Fraction of Ethanolic Extract of Pasak Bumi (Eurycoma longifolia Jack) Root as Antioxidant*. Kegiatan tersebut dilakukan pada tahun pertama.

Tahun kedua dilakukan Metode *in vivo* pada uji ini diperlukan untuk mengetahui aktivitas ko kemoterapi dan genotoksisitas dari obat kanker yang ditambahkan ekstrak akar pasak bumi terstandard isolat aktif. Mekanisme molekuler *in vitro*, *in vivo*, serta uji genotoksik membuat peta yang lengkap untuk menjelaskan mekanisme definitif suatu obat. Penelitian tingkat pascasarjana di bidang farmakologi tentunya sampai aras molekuler semacam ini. Namun demikian biaya yang diperlukan sangat besar sehingga perlu dukungan dana di luar dana mandiri. Setelah mekanisme definitif diketahui maka dilakukan formulasi dan uji klinik pada manusia yang akan dilakukan pada tahun ketiga. Uji klinik dilakukan meliputi uji klinik fase I dan fase II atas standard yang diterapkan pada peraturan KBPOM No.9 tahun 2014 dan peraturan KBPOM No.13 tahun 2014.

BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

3.2. 2.1 State of Arts terkait Ekstrak Akar Pasak Bumi sebagai Kemoterapi

2.1.1. Kanker dan Mekanisme molekuler kemoterapi serta immunomodulator

Terapi kanker difokuskan kepada strategi untuk menekan pertumbuhan tumor dengan mereparasi DNA yang mutasi serta mengaktifkan program apoptosis dalam sel (Nitiss, 2009). Pemacuan apoptosis, penghambatan proliferasi, serta antiangiogenis dapat digunakan sebagai penanda untuk prognosis atau meramal respon terhadap terapi kanker (Nassar *et al.*, 2008). Gen dan protein yang terlibat juga dapat dimanipulasikan sebagai sasaran terapeutik. Strategi yang digunakan untuk ini adalah pembuatan ko kemoterapi atau adjuvant untuk menurunkan efek sampingnya pada sel normal dan meningkatkan sistem imun (Tewari *et al.*, 2008).

Secara umum, terdapat tiga jalur utama antikanker dengan pengaktifan apoptosis, repair DNA, dan antioksidan di dalam sel mamalia (Halliwell, 2007). Apoptosis dapat diinduksi melalui pengaktifan reseptor kematian berperantaran ligan famili faktor nekrosis tumor (TNF) seperti Fas (CD95/APO-1), TNF-R1 dan TRAIL. Selain itu, kematian sel dengan mekanisme apoptosis juga dapat diinduksi oleh famili BCL-2 seperti Bax dan BCL-2 (Kim *et al.*, 2008).

Protein dari famili BCL-2 adalah pengatur utama jalur intrinsik. Adanya isyarat kematian, protein famili BCL-2 diaktifkan melalui modifikasi pasca translasi yang melibatkan proses defosfatasi atau proteolisis (Kang and Reynolds, 2009) dan seterusnya menyebabkan pembebasan faktor proapoptotik dari mitokondria ke dalam sitoplasma (Coley, 2008). Faktor proapoptotik yang terbebas termasuk prokaspase-9, sitokrom c, Smac/Diablo (*Second Mitochondria-derived Activator of Caspase/ Direct IAP Binding Protein with Low pI*), endonuklease G, Omi/HtrA2 dan faktor pencetus apoptosis (AIF) (Ghavami *et al.*, 2009).

Peranan p53 dalam apoptosis telah dibuktikan oleh banyak peneliti. Kajian menunjukkan bahwa, restorasi p53 menghasilkan pengurangan yang signifikan level mRNA BCL-2 dan bersamaan dengan itu terjadi peningkatan level mRNA Bax (Vazquez *et al.*, 2008). Level p53 yang tinggi dapat mengaktifkan penahanan siklus sel atau apoptosis karena kemampuan p53 sebagai faktor transkripsi yang mengikat DNA dan mengaktifkan gen spesifik. Pada masa yang sama, p53 juga mengaktifkan penghasilan enzim untuk memperbaiki DNA. Jika kerusakan ini tidak dapat diperbaiki, p53 mengaktifkan gen yang menghasilkan protein-protein yang memacu

apoptosis (von Minckwitz *et al.*, 2008).

Kanker juga terjadi akibat dari ekspresi yang tinggi dari COX-2 (Siklooksigenase-2) (Widyarani, 2010). Siklooksigenase 2 merupakan enzim yang ekspresinya diinduksi oleh beberapa promotor tumor, sitokin, faktor pertumbuhan, dan kondisi hipoksia karena stres oksidatif. Ekspresi COX-2 yang berlebihan berkaitan dengan semua tahap karsinogenesis (Greenhough *et al.*, 2009). Kontribusi COX-2 dalam proses karsinogenesis meliputi: a) meningkatkan ekspresi *proangiogenic growth factor*, b) memproduksi produk *eicosanoid*, *thromboxane A2*, PGE2, dan PGI2, yang secara langsung dapat menstimuli migrasi sel endotelial dan *growth factor* yang menginduksi angiogenesis, c) menghambat apoptosis sel epitelial dengan menstimulasi Bcl-2 atau mengaktivasi AKT (PKB). Hubungan antara COX-2 dan VEGF terlihat pada level ekspresi molekulernya (Schneider and Sledge, 2007). Hasil penelitian terdahulu menunjukkan adanya hubungan yang konsisten antara ekspresi COX-2 dan VEGF serta peranan prostaglandin dalam regulasi ekspresi VEGF. Inhibitor COX-2 dapat menghambat karsinogenesis, termasuk bahan-bahan alam yang berefek sebagai antioksidan sebagaimana isolat kuasinoid (yang salah satunya eurycomanon) *Eurycoma longifolia* (Zhang *et al.*, 2008). Penurunan sistem imun pada penderita kanker perlu mendapat penanganan yang serius.

Pengaruh ekstrak tanaman yang mengandung kuasinoid dapat berpengaruh pada limfosit dan sel *mononuclear* secara *in vitro* dapat meningkatkan produksi IL-1b dan TNF α tetapi produksi IL-4 dan IL-8 tidak meningkat. Pada mencit Balb C yang diinfeksi virus CMV, jinten hitam dapat meningkatkan aktivitas CD4 dan kadar IFN γ tetapi menurunkan aktivitas sel NK (Salem & Hossain, 2000).

Aktivasi protein estrogen menyebabkan adanya pertumbuhan berlebih melalui aktivasi onkoprotein yang lain seperti p13K, Akt, Raf dan ERK. Protein *Myc* merupakan protein faktor transkripsi yang penting untuk pertumbuhan, sedang *Cyc D1* merupakan protein penting dalam kelangsungan *cell cycle progression* sehingga adanya aktivasi tersebut akan mengakibatkan perkembangan kanker yang dipercepat (Cesehi *et al.*, 2005).

2.1.2. Peran Senyawa Aktif dalam Akar Pasak Bumi sebagai Kemoterapi

Eurycoma longifolia berasal dari famili Simaroubaceae, dikenal sebagai pasak bumi atau tongkat ali di Malaysia. Akar tumbuhan ini telah digunakan secara tradisional untuk mengobati sakit kepala, demam malaria, afrodisiaka, disentri dan juga digunakan sebagai suplemen kesehatan, baik sebagai bahan tunggal ataupun

dalam bentuk campuran (Ang *et al.*, 2001; Ang *et al.*, 2007).

Efek sitotoksik dan antitumor juga ditunjukkan oleh *E. longifolia* (Kuo *et al.*, 2003). Dalam kajian awal, ekstrak metanol akar *E. longifolia* menunjukkan efek sitotoksik secara *in vitro* pada sel leukemia limfosit murin (P-388) (Nurhanan *et al.*, 2005). Ekstrak metanol tumbuhan ini juga dilaporkan mempunyai aktivitas terhadap sel kanker payudara (MCF-7) dan menginduksi apoptosis. Eurikomanon yang diisolasi dari ekstrak metanol *E. longifolia* juga menunjukkan aktivitas sitotoksik terhadap sel kanker payudara (MCF-7) dan menginduksi apoptosis melalui pengurangan ekspresi protein BCl-2 (Tee and Azimahtol, 2005).

Eurycoma longifolia mengandung eurikomanon bersifat toksik terhadap sel kanker ovari (CaOv-3), sel kanker serviks (HeLa), hepar (HepG2), kulit (HM3KO) dan relatif nontoksik terhadap sel-sel normal. Mekanisme kematian yang diakibatkan oleh eurikomanon adalah secara apoptosis pada sel HeLa (Zakaria *et al.*, 2009) dan MCF-7 (Tee, Cheah *et al.*, 2007), dan sel T47D (Nurani, 2012)

Pada turunan HEPG2, eurikomanon dilaporkan memiliki IC₅₀ 4.21±0.2 µg/mL (Zakaria, Rahmat *et al.*, 2009). Nilai IC₅₀ yang rendah pada turunan sel kanker kulit dan sifatnya yang relatif tidak toksik terhadap turunan sel normal memberikan harapan bagi eurikomanon ini untuk dikembangkan sebagai agen antikanker bagi terapi kanker kulit

2.1.3. Doxorubicin dan Efek Sampingnya

Doxorubicin dapat menimbulkan efek samping dan tidak spesifik, sehingga dapat merusak sel tubuh normal dan dapat menimbulkan resistensi (Smith *et al.*, 2006). Resistensi ini dapat terjadi karena peningkatan ekspresi BCl-2, p53, COX-2, serta VEGF. Doxorubisin merupakan kemoterapi golongan antibiotik yang selain menekan sel kanker juga berpengaruh pada sel normal. Oleh karena itu perlu dilakukan penelitian tentang efek pemberian ekstrak etanol akar pasak bumi terhadap ekspresi BCl-2, p53, COX-2, serta VEGF yang diinduksi doxorubicin agar dapat mengurangi efek samping doxorubicin (Mi *et al.*, 2007).

2.2. Studi Pendahuluan dan Hasil yang sudah Dicapai

Eurycoma longifolia telah digunakan untuk sebagai antioksidan, obat malaria, penambah stamina, antikanker, dan aprodisiaka. Senyawa yang terkandung dalam *E. longifolia* adalah kuasinoid (Miyake *et al.*, 2009) serta alkaloid 9-metoksisantin-6-on (Rosli *et al.*, 2009), dan flavonoid (Nurani, 2008).

Ekstrak metanol akar *E. longifolia* Jack mempunyai aktivitas terhadap *P.*

falciparum, sitotoksik (Chan *et al.*, 2007) (Wernsdorfer *et al.*, 2009), anti-HIV (Bhat and Karim), serta sebagai *plant growth inhibitor* (Tee, Cheah *et al.*, 2007). Ekstrak metanol, n-butanol, kloroform, dan air dari akar pasak bumi sudah diuji efek sitotoksitasnya dengan MTT menggunakan sel KB, DU-145, RD, MCF-7, CaOV-3, dan MDBK (Mahmood, *et al.*, 2005). Ekstrak etanol mempunyai potensi yang besar sebagai sitotoksitas dan antiproliferatif terhadap sel T47D dibandingkan ekstrak kloroform, dan air (Nurani, *et al.*, 2009).

Penelitian yang sudah dilakukan bahwa ekstrak etanol akar pasak bumi adalah aktivitas menginduksi apoptosis pada sel MCF-7 dengan metode pengecatan DNA (Tee, 2005; Low, 2005). Ekstrak metanol, n-butanol, dan kloroform memiliki efek sitotoksik terhadap sel KB, DU-145, RD, MCF-7, CaOV-3, serta MDBK. Hasil IC50 yang diperoleh dari hasil uji sitotoksik terlihat pada Tabel 1. Ekstrak metanol, air, dan metanol:air (1:1) mempunyai aktivitas terhadap sel Human HT-1080 fibrosarcoma sel. Harga IC50 tersebut untuk ekstrak MeOH sebesar 15,8; ekstrak MeOH:H2O sebesar 53,7; dan ekstrak H2O > 100 g/ml. Ekstrak metanol diujikan pada beberapa sel yang lain yaitu sel 26-L5 = 15,8; HeLa= 14,2; LLC = 2,29; A549 = 19,1; dan B16-BL6=9,16 g/ml (Nurhanan, Hawariah *et al.*, 2005).

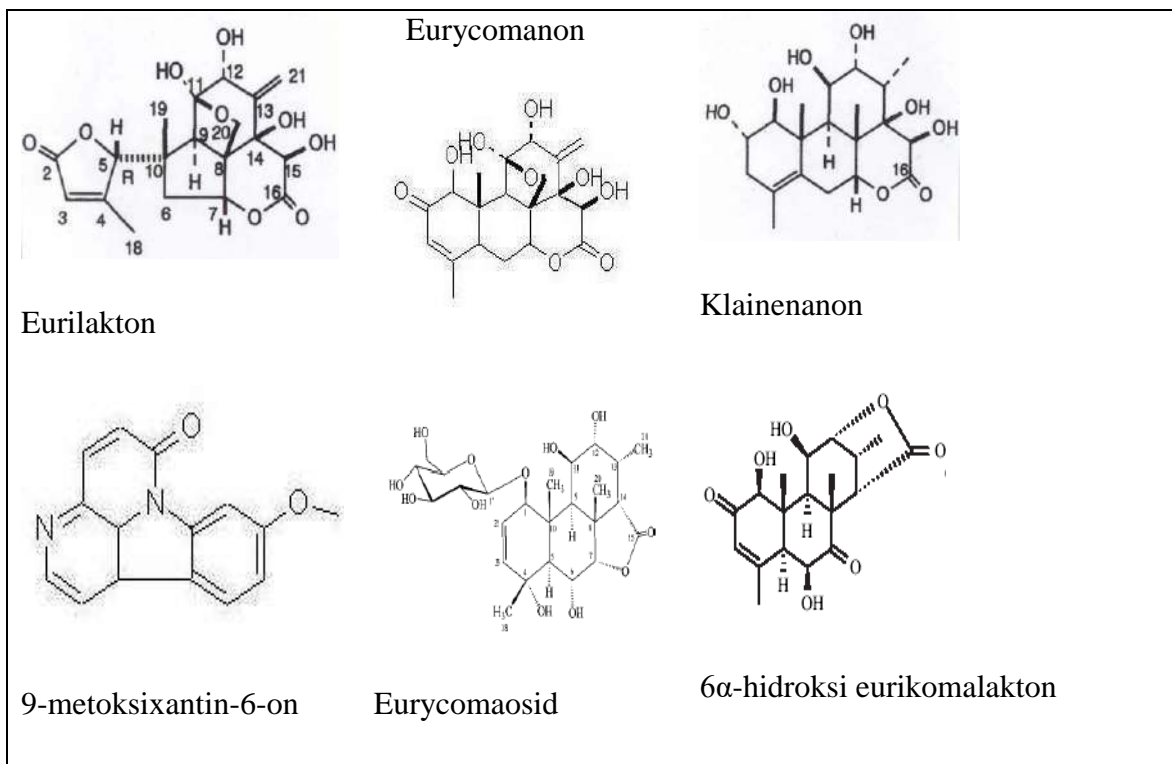
Tabel I. Hasil IC50 (IC50±SE < 5%) dengan *Metilen Blue Assay* untuk ekstrak akar *Eurycoma longifolia* Jack (Nurhanan, Hawariah *et al.*, 2005)

Cell line	Sampel					
	Ekstrak metanol	Ekstrak n-butanol	Ekstrak kloroform	Ekstrak air	Tamoxifen	9-methoxycantin-6-one
Caov-3	9,2	11,9	5,9	>100,0	5,3	3,2
DU-145	33,0	21,5	11,7	>100,0	-	-
MCF-7	8,6	33,4	21,7	>100,0	-	-
KB	20,0	19,2	11,2	>100,0	-	-
RD	17,9	>100,0	>100,0	>100,0	-	-
MDBK	32,2	25,2	20,8	>100,0	7,2	18,1

Senyawa-senyawa yang sudah teridentifikasi, yang terkandung dalam akar *E. longifolia* Jack terlihat pada Gambar 2. Alkaloid lain yang terdeteksi dari akar pasak bumi adalah 9-metoksixantin-6-on, 9-metoksixantin-6-on-N-oksida, 9-hidroksixantin-

6-on, 9-hidroksixantin-6-on-N-oksida. Senyawa-senyawa tersebut sudah diuji aktivitas sebagai antimalaria (Kardono, et.al., 1991).

Mekanisme penghambatan proses karsinogenesis dapat melalui apoptosis atau program bunuh diri sel. Secara umum jalur yang berperan pada proses apoptosis yaitu jalur p53-bax. Jalur ini terjadi karena gen p53 teraktivasi, sehingga ekspresinya yang berupa protein p53 tinggi. Protein p53 merupakan protein tumor supresor dan regulator yang diaktivasi oleh kerusakan DNA atau stress tertentu pada sel. Protein ini dapat memacu apoptosis melalui peningkatan Bax. Dalam hal ini Bax bersama p53 dan protein lainnya yang selanjutnya terjadi aktivasi berantai sampai terjadi apoptosis (von Minckwitz, Sinn et al., 2008).



Gambar 1. Struktur senyawa yang terdapat di dalam tanaman Pasak Bumi (*Eurycoma longifolia* Jack) (Jiwajinda, et.al., 1991; Jiwajinda, et.al., 2002; Bedir et.al., 2003).

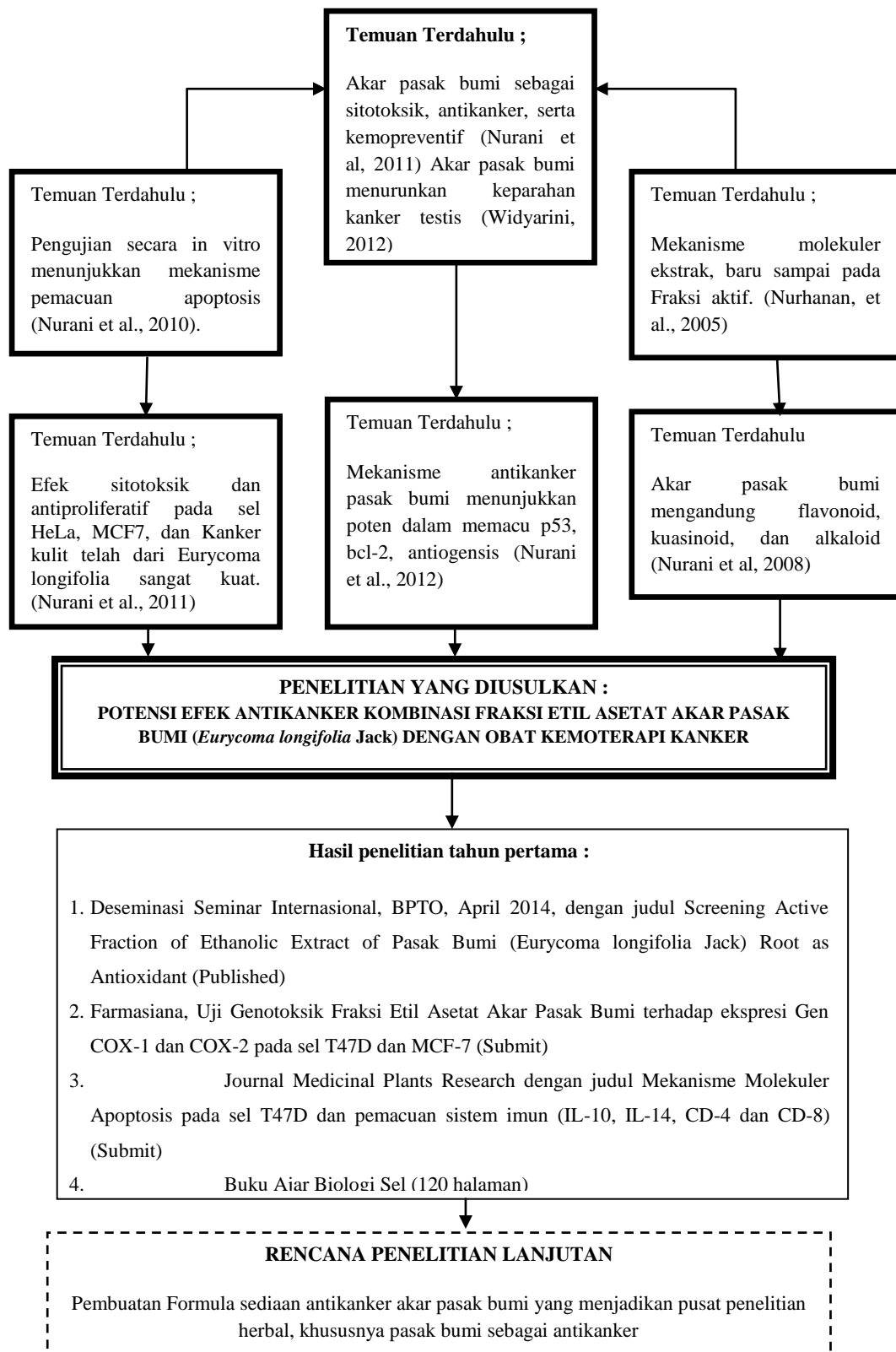
Penelitian pendahuluan yang telah dilaksanakan oleh tim pengusul penelitian adalah mekanisme penghambatan proses karsinogenesis sekunder (metabolitnya yang aktif) dapat melalui inaktivasi enzim yang berperan dalam biosintesisnya. Sitokrom P450 merupakan enzim yang sangat berperan dalam metabolisme karsinogen pada fase I. Penghambatan ekspresi enzim sitokrom P450 menjadikan metabolit aktif menjadi rendah kadarnya di dalam darah. Dengan kondisi yang demikian, diharapkan DNA adduct yang menyebabkan gen lain termutasi menjadi

lebih kecil. Gen lain yang umum termutasi pada pemaparan DMBA adalah ras dan CYP450 (Nurani, et al., 2009).

2.3. Road Map penelitian

Penelitian tentang mekanisme molekuler kemopreventif dan antikanker senyawa aktif akar pasak bumi (*Eurycoma longifolia* Jack) kajian *in vitro* pada sel T47D dan *in vivo* pada kanker payudara pada tikus galur SD yang diinduksi DMBA bahwa ekstrak etanol akar pasak bumi dapat berperan sebagai kemopreventif sel kanker payudara melalui mekanisme pemacuan apoptosis dan penghambatan proliferasi (Nurani, 2011).

Penelitian tentang eurikomanon bersifat toksik terhadap sel kanker ovari (CaOv-3), sel kanker serviks (HeLa), hepar (HepG2), kulit (HM3KO) dan relatif nontoksik terhadap sel-sel normal. Mekanisme kematian yang diakibatkan oleh eurikomanon adalah secara apoptosis pada sel HeLa (Zakaria, Rahmat et al., 2009) Azimahtol 2007) dan MCF-7 (Muhamad *et al.*). Pada turunan sel kanker kulit, eurikomanon dilaporkan memiliki IC_{50} 4.21 ± 0.2 $\mu\text{g/mL}$ (Mahfudh and Pihie, 2008).



Gambar 2. Road Map Penelitian Potensi Efek Antikanker Kombinasi Fraksi Etil Asetat Akar Pasak Bumi (*Eurycoma longifolia* Jack) dengan Obat Kemoterapi

BAB 3. TUJUAN DAN MANFAAT PENELITIAN

3.1. Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan, pada tahun pertama, mengkaji (1) standardisasi senyawa aktif, (2) efek sinergisme campuran fraksi etil asetat dengan doxorubicin terhadap kenaikan aktivitas daya hambat pertumbuhan sel kanker payudara, (3) mekanisme molekuler secara *in vitro* terhadap ekspresi protein yang berperan dalam antiangiogenesis, antiproliferasi, apoptosis dan immunomodulator (BCI-2, p53, COX-1, COX-2, VEGF, Caspase-3, Caspase-8, IL-10, IL-14 dan MHC), serta pada tahun kedua: (1) uji aktivitas antikarsinogenesis serta mekanisme molekulernya secara terhadap ekspresi protein yang berperan dalam antiangiogenesis, antiproliferasi, apoptosis dan immunomodulator (BCI-2, p53, COX-1, COX-2, VEGF, Caspase-3, Caspase-8, IL-10, IL-14 dan MHC) *in vivo*, serta (2) genotoksik kombinasi fraksi etil asetat akar pasak bumi dan doxorubicin terhadap hewan coba, dan pada tahun ketiga: (1) pembuatan formula, dan (2) uji klinik.

3.2. Manfaat Penelitian

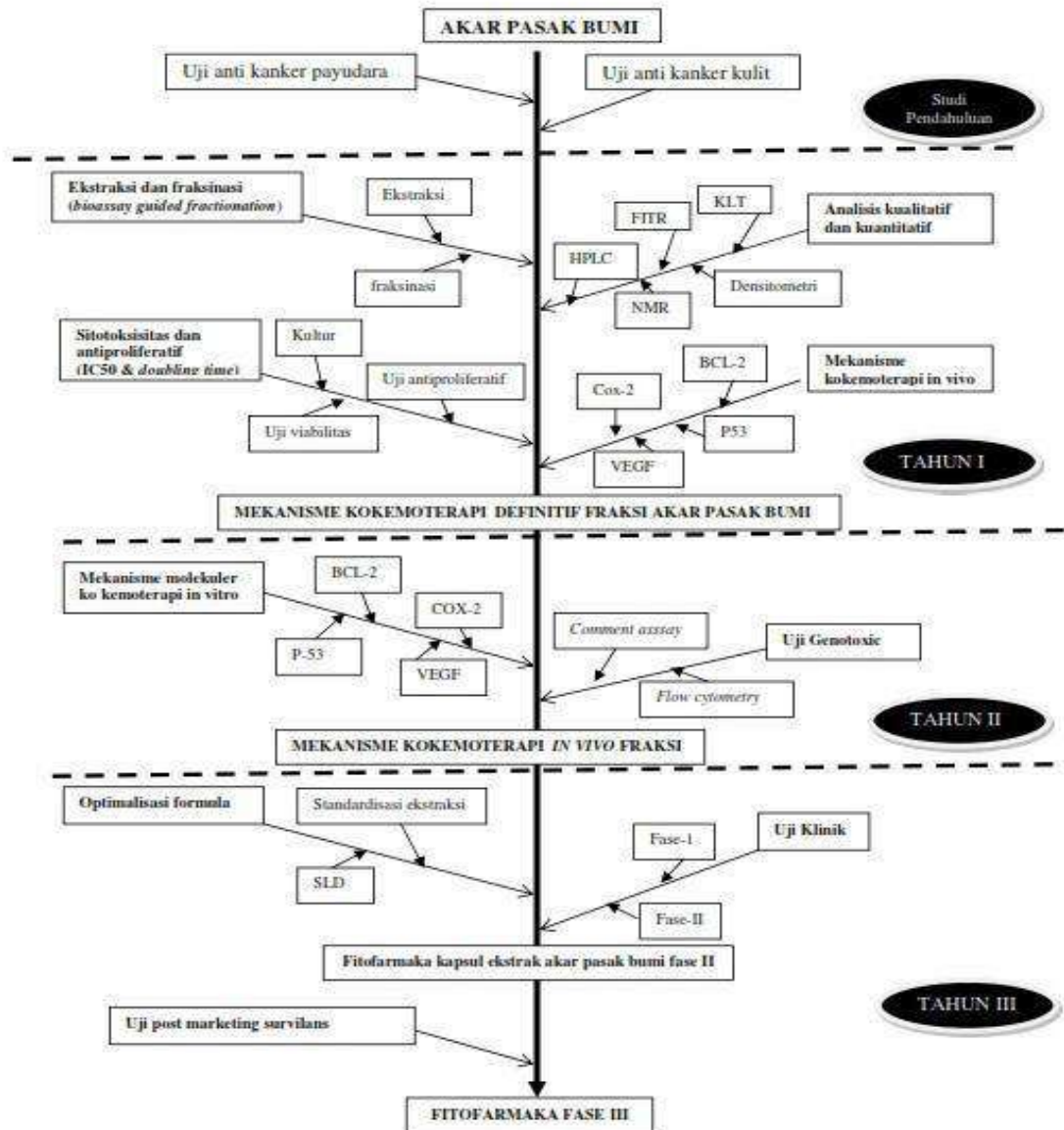
Beberapa kepentingan penelitian yang diusulkan dilihat dari beberapa sudut pandang adalah sebagai berikut :

1. Dilihat dari sudut pandang klinis dan epidemiologis, penelitian ini sebagai bagian dari upaya penurunan insidensi kanker payudara dengan pengkajian sediaan ko kemoterapi serta menurunkan efek samping kemoterapi yang diberikan.
2. Dilihat dari sudut pandang ekonomis, penurunan insidensi, prevalensi, mortalitas dan morbiditas kanker dengan strategi ko-kemoterapi dengan ekstrak akar pasak bumi dipandang lebih *health-economics* dan *cost-effective* dibandingkan dengan strategi terapi farmakologis karena menggunakan dosis kemoterapi yang lebih rendah.
3. Dilihat dari sudut pandang keilmuan, penelitian ini penting untuk dilakukan untuk mengkaji mekanisme molekuler yang definitive dari sinergi ekstrak terstandard dan doxorubicin
4. Dari sudut pandang pendidikan pascasarjana, penelitian ini penting untuk meningkatkan kemampuan dan mutu penelitian serta mutu artikel yang dipublikasikan secara nasional dan internasional.

BAB 4. METODE PENELITIAN

4.1. Desain Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian dengan rancangan *research and development* yang dilakukan dalam tiga tahap yang dikerjakan dalam 3 tahun. *Fish bone* penelitian ini dapat dilihat pada Gambar 3.



Gambar 3. *Fishbone* penelitian Kombinasi akar pasak bumi dan doxorubicin sebagai antikanker

Kegiatan Tahun I meliputi :

1. Ekstraksi, dan Fraksinasi akar pasak bumi

a. Ekstraksi akar pasak bumi

Akar pasak bumi diperoleh dari Banjarmasin Kalimantan Selatan kemudian dibuat serbuk dan dikeringkan di Laboratorium Teknologi Sediaan Farmasi UAD. Pembuatan ekstrak dilakukan dengan merendam 5 kg serbuk ke dalam etanol (70%) dan proses maserasi diulang 4 kali. Filtrat diuapkan dengan evaporator sampai diperoleh ekstrak kental.

b. Pembuatan Fraksi Etil asetat

Pembuatan fraksi etil asetat dilakukan dengan cara ekstrak etanol ditambah aquadest 1:1 kemudian dilakukan partisi dengan etil asetat. Partisi dilakukan 3x dan fraksi etil asetat dipekatkan. Fraksi etil asetat dikumpulkan dan kemudian dievaporator sampai diperoleh fraksi kering.

2. Analisis Kualitatif Senyawa dan Kuantitatif.

Analisis kualitatif dengan penetapan *finger print* ekstrak terpurifikasi dengan menggunakan metod KLT Densitometri, FTIR dan NMR.

3. Pengamatan viabilitas sel dan antiproliferatif sel

Pengamatan viabilitas sel dan antiproliferasi sel dilakukan dengan metode MTT. Langkah kerjanya meliputi:

a. Preparasi kultur sel

Sel diambil dari tangki nitrogen kemudian dicairkan dalam penangas 37⁰C. Ampul dibuka dan sel dipindah ke dalam conical tube steril yang berisi media. Sel disentrifugasi dengan kecepatan 650 rpm selama 3 menit, diambil endapannya dan ditambahkan media baru. Sel ditumbuhkan dalam beberapa buah tissue culture flask yang kemudian diinkubasi dalam incubator CO₂ pada 37⁰C dan aliran CO₂ 5%.

b. Pembuatan larutan uji

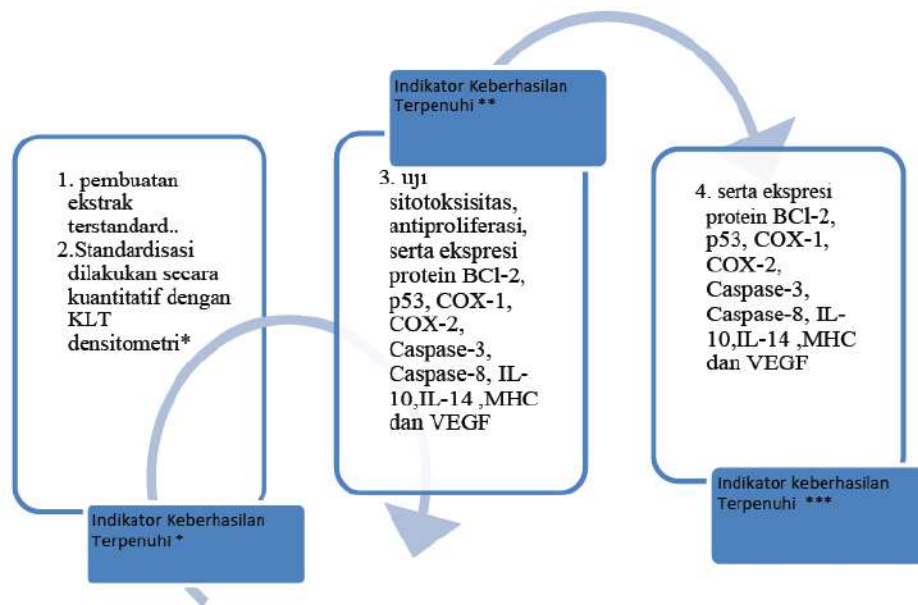
Larutan uji selalu dibuat baru dengan melarutkan senyawa uji dalam DMSO sehingga diperoleh larutan induk dengan konsentrasi 10.000 uM. Penggunaan DMSO hingga 1% tidak berpengaruh pada proliferasi sel (Lee et al., 2009). Larutan induk diencerkan dengan Bovine Serum Albumin dalam PBS. Larutan uji doxorubicin dengan media kultur sehingga diperoleh seri konsentrasi 50 -800 nM.

c. Uji sitotoksik dengan pengamatan viabilitas sel, antiproliferatif

Uji sitotoksik dengan Viabilias sel dan antiproliferasi dilakukan dengan metode MTT. Kultur sel MCF-7 dan T47D yang telah konfluen dipanen dan didistribusikan ke dalam plate 96 sumuran dan diinkbusai 24 jam pada suhu kamar. Penambahan media dilakukan setelah jam ke-24. Selanjutnya ditambahkan MTT dan reagen stoper. Sel yang hidup akan bereaksi dengan MTT membentuk kristal formazan berwarna ungu. Pengamatan dilakukan dengan ELISA reader pada lambda 595 nm.

4. Uji Mekanisme molekuler ko kemoterapi secara in vitro

Kultur sel MCF-7 dan T47D yang telah konfluen dipanen dengan tripsin EDTA dan didistribusikan dengan konsentrasi 5×2.10^3 sel / mL. Media kultur sebanyak 100 uL ditambahkan bersama doxorubicin dengan kombinasi berbagai kadar. Selanjutnya dilakukan inkubasi selama 3 jam 37°C . Sel yang sudah diinkubasi ditambah reagen stopper untuk melarutkan formazan. Sel lanjutkan diinkubasi semalam kemudian dibaca dengan ELISA reader. Bentuk skematis metode kegiatan tahun I seperti terlihat pada Gambar 4.



Gambar 4. Skema Kerja Penelitian Tahun I

Keterangan Gambar 4:

*= **Indikator keberhasilan** tahap ini (pembuatan ekstrak terstandard) adalah diperoleh ekstrak terstandard isolat aktif dengan kadar isolat aktif sebagai standard. **= **Indikator keberhasilan** tahap ini (uji sitotoksik dan antiproliferatif) adalah diperolehnya harga Inhibition Concentration (IC50) dan Chemotherapy Index (CI)

***= **Indikator keberhasilan** diperoleh persen ekspresi protein sel dibandingkan dengan jumlah

sel yang ada. Protein yang dianalisis: BCl-2, p53, COX-2, dan VEGF.

Kegiatan Tahun II

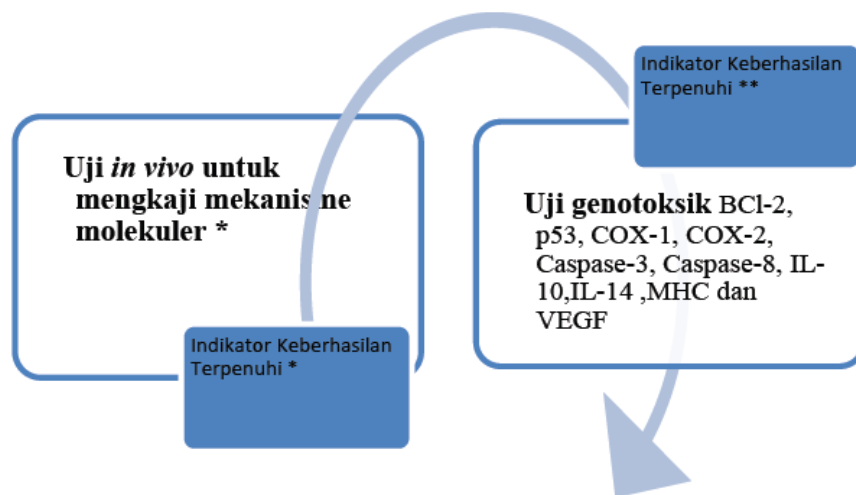
a. Uji *in vivo* untuk mengetahui mekanisme molekuler

Mencit dibuat kanker dengan DMBA (7,3 dimetilbenz(a)anthracene) dengan konsentrasi 15 mg/kg BB dalam oleum sesami. Pelaksanaan uji dilakukan dengan membuat kelompok hewan uji, I. Base line; II. Kontrol negatif; III. Ekstrak dosis 100 mg / kg BB; IV Dosis 200 mg/kg BB; dan V Dosis 400 mg/kg BB. Pemberian ekstrak secara peroral 20 kali, setiap hari selama 20 hari dan diamati setelah 48 pekan kemudian.

Parameter aktivitas dilakukan terhadap histopatologi jaringan dengan pengamatan perubahan morfologinya serta ekspresi protein yang diamati dengan metode imunohistokimia. Ekspresi yang diamati adalah p53, BCl-2, COX-2, dan VEGF.

b. Uji genotoxic

Uji genotoxic diamati dengan cara yang sama pada uji mekanisme molekuler, namun pada dosis toksik. Dosis yang digunakan adalah 800 mg/kg BB. Metode yang digunakan pada uji genotoxic adalah Commet assay dan menggunakan fluocytometry untuk melihat parameter ekspresi protein seperti pada uji mekanisme molekuler. Bentuk skematis metode kegiatan tahun II adalah seperti pada Gambar 5.



Gambar 5. Skema Kerja Penelitian Tahun II

Keterangan Gambar 5.

*= **Indikator keberhasilan** diperoleh % ekspresi BCl-2, p53, COX-1, COX-2, Caspase-3, Caspase-8, IL-10, IL-14, MHC dan VEGF

= **Indikator keberhasilan diperoleh % ekspresi BCl-2, p53, COX-1, COX-2, Caspase-3,

Caspase-8, IL-10,IL-14 ,MHC dan VEGF

Pada tahun ketiga

1. Optimasi Formula sediaan kapsul akar pasak bumi

Optimasi formula dilakukan dengan menggunakan metode Simplex Lattice Design. Pengamatan dilakukan terhadap tiga buah formula 100% ekstrak, 50%:50% ekstrak : bahan tambahan; serta 100% bahan tambahan. Formula terpilih adalah formula yang mempunyai efek maksimal yang diperoleh. Rumus yang digunakan untuk memperoleh formula terbaik adalah:

$Y = a[A] + b[B] + c[A][B]$ Y= formula terbaik

a : koefisien A (laktosa)

b: koefisien B (fruktosa)

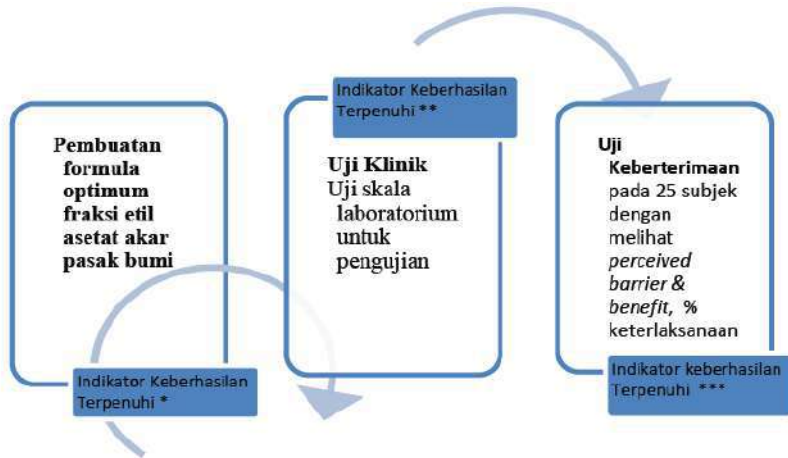
A: bahan tambahan A (laktosa)

B: bahan tambahan B (fruktosa)

Formula terpilih adalah formula yang menghasilkan sifat fisik tablet yang paling baik. Sifat fisik yang dikaji adalah: keseragaman bobot, kekerasan, waktu hancur, dan uji disolusi. Batas nilai yang ditetapkan adalah yang ditetapkan dalam Farmakopi Indonesia.

2. Uji klinik

Desain penelitian dilakukan dengan *control experiment design*. Rancangan penelitian dengan pengelompokan pasien menjadi 2 kelompok. Kelompok I dilakukan treatment dengan obat standar kemoterapika dan kelompok II diberikan kombinasi obat standard dengan fraksi etil asetat . Pemberian obat direncanakan selama 6 bulan, interval 1 bulan sekali dilakukan monitoring terhadap hasil uji klinik. Dosis pemberian sediaan obat herbal terstandard fraksi etil asetat dari sambiloto adalah dosis ekstrak setara dengan kandungan eurycomanon 100 mg tablet. Monitoring efek terapi dan efek samping obat akan dilakukan tiap 1 bulan sekali. Bentuk skematis metode kegiatan tahun ke-3 seperti tersaji pada Gambar 6.



Gambar 6. Skema Kerja Penelitian Tahun 3

Keterangan Gambar 6 :

*= **Indikator keberhasilan** tahap ini diperoleh formula optimum

**= Indikator keberhasilan tahap ini adalah tervalidasinya uji klinik.

***= Indikator keberhasilan uji keberterimaan adalah prosentase keterlaksanaan program $>75\%$ dan *drop out rate* $< 25\%$.

BAB 5. HASIL DAN PEMBAHASAN
Artikel leukosit ada di file d – laporan proyek

BAB 6. RENCANA TAHAPAN BERIKUTNYA (untuk laporan tahunan)

BAB 7. KESIMPULAN DAN SARAN

DAFTAR PUSTAKA

- Anai, S., S. Goodison, K. Shiverick, et al., 2007, Knock-down of Bcl-2 by antisense oligodeoxynucleotides induces radiosensitization and inhibition of angiogenesis in human PC-3 prostate tumor xenografts, *Molecular Cancer Therapeutics*, **6**(1): 101-111.
- Ang, H. H., K. L. Chan and J. W. Mak, 2007, In vitro antimalarial activity of quassinoids from *Eurycoma longifolia* against Malaysian chloroquine-resistant *Plasmodium falciparum* isolates, *Planta medica*, **61**(02): 177-178.
- Ang, H. H., S. Ikeda and E. K. Gan, 2001, Evaluation of the potency activity of aphrodisiac in *Eurycoma longifolia* Jack, *Phytotherapy Research*, **15**(5): 435-436.
- Bhat, R. and A. A. Karim, Tongkat Ali (*Eurycoma longifolia* Jack): A review on its ethnobotany and pharmacological importance, *Fitoterapia*, **81**(7): 669-679.
- Chan, K. L., M. J. O'Neill, J. D. Phillipson, et al., 2007, Plants as Sources of Antimalarial Drugs. Part 31 *Eurycoma longifolia*, *Planta medica*, **52**(02): 105-107.
- Coley, H. M., 2008, Mechanisms and strategies to overcome chemotherapy resistance in metastatic breast cancer, *Cancer treatment reviews*, **34**(4): 378-390.
- Covalada, A. M. S., H. van den Berg, J. Vervoort, et al., 2008, Influence of cellular ER α /ER β ratio on the ER α -agonist induced proliferation of human T47D breast cancer cells, *Toxicological sciences*, **105**(2): 303-311.
- Diaz-Montero, C. M., M. L. Salem, M. I. Nishimura, et al., 2009, Increased circulating myeloid-derived suppressor cells correlate with clinical cancer stage, metastatic tumor burden, and doxorubicin-cyclophosphamide chemotherapy, *Cancer Immunology, Immunotherapy*, **58**(1): 49-59.
- Eyler, C. E. and J. N. Rich, 2008, Survival of the fittest: cancer stem cells in therapeutic resistance and angiogenesis, *Journal of Clinical Oncology*, **26**(17): 2839-2845.
- Ghavami, S., M. Hashemi, S. R. Ande, et al., 2009, Apoptosis and cancer: mutations within caspase genes, *Journal of medical genetics*, **46**(8): 497-510.
- Goossens, L., N. Pommery and J. Pierre Henichart, 2007, COX-2/5-LOX dual acting anti-inflammatory drugs in cancer chemotherapy, *Current topics in medicinal chemistry*, **7**(3): 283-296.
- Greenhough, A., H. J. M. Smartt, A. E. Moore, et al., 2009, The COX-2/PGE2 pathway: key roles in the hallmarks of cancer and adaptation to the tumour microenvironment, *Carcinogenesis*, **30**(3): 377-386.
- Halliwell, B., 2007, Oxidative stress and cancer: have we moved forward?, *Biochem. j*, **401**: 1-11.
- Jemal, A., R. Siegel, E. Ward, et al., 2008, Cancer statistics, 2008, *CA: a cancer journal for clinicians*, **58**(2): 71-96.
- Kang, M. H. and C. P. Reynolds, 2009, Bcl-2 inhibitors: targeting mitochondrial apoptotic pathways in cancer therapy, *Clinical cancer research*, **15**(4): 1126-1132.
- Kardono, L. B. S., C. K. Angerhofer, S. Tsauri, et al., 1991, Cytotoxic and antimalarial constituents of the roots of *Eurycoma longifolia*, *Journal of natural products*, **54**(5): 1360-1367.
- Kim, H., H. Chung, H.-J. Kim, et al., 2008, Id-1 regulates Bcl-2 and Bax expression through p53 and NF- κ B in MCF-7 breast cancer cells, *Breast cancer research and treatment*, **112**(2): 287-296.

- Kuo, P.-C., L.-S. Shi, A. G. Damu, et al., 2003, Cytotoxic and antimalarial β -carboline alkaloids from the roots of *Eurycoma longifolia*, *Journal of natural products*, **66**(10): 1324-1327.
- Mahfudh, N. and A. H. L. Pihie, 2008, Eurycomanone induces apoptosis through the up-regulation of p53 in human cervical carcinoma cells, *Journal of cancer molecules*, **4**(4): 109-115.
- Mahmood, M., R. Normi and S. Subramaniam, Optimization of suitable auxin application in a recalcitrant woody forest plant of *Eurycoma longifolia* (Tongkat Ali) for callus induction, *African Journal of Biotechnology*, **9**(49): 8417-8428.
- Mi, J., X. Zhang, Z. N. Rabbani, et al., 2007, RNA aptamer-targeted inhibition of NF- κ B suppresses non-small cell lung cancer resistance to doxorubicin, *Molecular Therapy*, **16**(1): 66-73.
- Miyake, K., Y. Tezuka, S. Awale, et al., 2009, Quassinoids from *Eurycoma longifolia*, *Journal of natural products*, **72**(12): 2135-2140.
- Mok, T. S. K., W. Yeo, P. J. Johnson, et al., 2007, A double-blind placebo-controlled randomized study of Chinese herbal medicine as complementary therapy for reduction of chemotherapy-induced toxicity, *Annals of oncology*, **18**(4): 768-774.
- Muhamad, S., A. H. L. Pihie, J. Latif, et al., Induction of apoptosis in MCF-7 via the caspase pathway by longilactone from *Eurycoma longifolia* Jack, *Res. Pharm. Biotechnol*, **3**: 1-10.
- Nassar, A., D. Lawson, G. Cotsonis, et al., 2008, Survivin and caspase-3 expression in breast cancer: correlation with prognostic parameters, proliferation, angiogenesis, and outcome, *Applied Immunohistochemistry & Molecular Morphology*, **16**(2): 113-120.
- Nitiss, J. L., 2009, Targeting DNA topoisomerase II in cancer chemotherapy, *Nature Reviews Cancer*, **9**(5): 338-350.
- Nurhanan, M. Y., L. P. Hawariah, A. M. Ilham, et al., 2005, Cytotoxic effects of the root extracts of *Eurycoma longifolia* Jack, *Phytotherapy Research*, **19**(11): 994-996.
- Nurani, L.H., Utami, D., Salamah, N., 2011, The cytotoxic effect of isolate of Eurycomanone of Pasak Bumi (*Eurycoma longifolia* Jack) Roots to T47D cell lines, Proceeding, International Joint Symposium Faculty of Medicines Universitas Gadjah Mada.
- Nurani, L. H., 2011, Mekanisme molekuler akar pasak bumi (*Eurycoma longifolia* Jack) sebagai antikanker dan kemopreventif, *Disertasi*, Fakultas Kedokteran UGM, Yogyakarta,
- Nurani, L. H., Mubarika, S., Pramono, S., and Mustofa, 2009, The cytotoxicity of extract of *Eurycoma longifolia* Jack root on T47D cell line, *Proseeding International Simposium Cancer*, UAD, Yogyakarta
- Nurani, L. H., Mubarika, S., Pramono, S., and Mustofa, 2008, Uji kemopreventif ekstrak etanol akar pasak bumi (*Eurycoma longifolia* Jack) terhadap kanker payudara pada tikus galur sprangue dawley yang diinduksi 7,12 Dimetilbenz-anthrasen *Prosiding Seminar Nasional POKJANAS TOI, Sinergi antara obat herbal dan obat sintesis dalam optimalisasi penyakit*, Yogyakarta.
- Nurani, L.H., Mubarika, S., Pramono, S., and Mustofa,, 2012, Pemacuan p53 oleh ekstrak etanol akar pasak bumi pada tikus SD yang diinduksi DMBA, *Pharmacyana*, in press
- Rosli, N., M. Maziah, K. L. Chan, et al., 2009, Factors affecting the accumulation of 9-methoxycanthin-6-one in callus cultures of *Eurycoma longifolia*, *Journal of Forestry Research*, **20**(1): 54-58.
- Schneider, B. P. and G. W. Sledge, 2007, Drug insight: VEGF as a therapeutic target for breast cancer, *Nature Clinical Practice Oncology*, **4**(3): 181-189.

- Smith, L., M. B. Watson, S. L. O'Kane, et al., 2006, The analysis of doxorubicin resistance in human breast cancer cells using antibody microarrays, *Molecular Cancer Therapeutics*,**5**(8): 2115-2120.
- Soussi, T. and K. G. Wiman, 2007, Shaping genetic alterations in human cancer: the p53 mutation paradigm, *Cancer cell*,**12**(4): 303-312.
- Tee, T. T. and H. L. P. Azimahtol, 2005, Induction of apoptosis by Eurycoma longifolia Jack extracts, *Anticancer research*,**25**(3B): 2205-2213.
- Tee, T. T., Y. H. Cheah and L. P. A. Hawariah, 2007, F16, a fraction from Eurycoma longifolia jack extract, induces apoptosis via a caspase-9-independent manner in MCF-7 cells, *Anticancer research*,**27**(5A): 3425-3430.
- Tewari, M., A. Krishnamurthy and H. S. Shukla, 2008, Predictive markers of response to neoadjuvant chemotherapy in breast cancer, *Surgical oncology*,**17**(4): 301-311.
- Vazquez, A., E. E. Bond, A. J. Levine, et al., 2008, The genetics of the p53 pathway, apoptosis and cancer therapy, *Nature Reviews Drug Discovery*,**7**(12): 979-987.
- Viele, C. S., 2007, Managing oral chemotherapy: the healthcare practitioner's role, *American journal of health-system pharmacy*,**64**(9 Supplement 5): S25-S32.
- von Minckwitz, G., H.-P. Sinn, G. n. Raab, et al., 2008, Clinical response after two cycles compared to HER2, Ki-67, p53, and bcl-2 in independently predicting a pathological complete response after preoperative chemotherapy in patients with operable carcinoma of the breast, *Breast Cancer Res*,**10**(2): R30.
- Wernsdorfer, W. H., S. Ismail, K. L. Chan, et al., 2009, Activity of Eurycoma longifolia root extract against Plasmodium falciparum in vitro, *Wiener klinische Wochenschrift*,**121**(3): 23-26.
- Wickramasinghe, N. S., T. T. Manavalan, S. M. Dougherty, et al., 2009, Estradiol downregulates miR-21 expression and increases miR-21 target gene expression in MCF-7 breast cancer cells, *Nucleic Acids Research*,**37**(8): 2584-2595.
- Zakaria, Y., A. Rahmat, A. H. L. Pihie, et al., 2009, Eurycomanone induce apoptosis in HepG2 cells via up-regulation of p53, *Cancer Cell Int*,**9**(16): 1-21.
- Zhang, X.-H., D.-P. Huang, G.-L. Guo, et al., 2008, Coexpression of VEGF-C and COX-2 and its association with lymphangiogenesis in human breast cancer, *BMC cancer*,**8**(1): 4.

LAMPIRAN

LAMPIRAN 1. Artikel Publikasi Seminar Nasional

Uji Sitotoksik dan Uji Kombinasi Fraksi Etil Asetat Ekstrak Etanol Akar Pasak Bumi (*Eurycoma longifolia* Jack.) dan Doksorubisin pada Sel Limfosit

Laela Hayu Nurani¹, Sitarina Widyarini², Ahmad Mursyidi¹

¹Dosen Fakultas Farmasi Universitas Ahmad Dahlan,

²Dosen Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Gadjah Mada

Intisari

Uji efek sitotoksik dan uji kombinasi fraksi etil asetat ekstrak etanol akar pasak bumi (*Eurycoma longifolia*, Jack.) dan doksorubisin telah dilakukan terhadap sel normal limfosit secara *in vitro*. Fraksi etil asetat ekstrak etanol akar pasak bumi dan kombinasinya dengan doksorubisin diuji dengan metode MTT. Prinsip kerja metode MTT adalah dengan mengukur aktivitas dehidrogenase mitokondria pada sel-sel hidup yang memiliki kemampuan untuk mengkonversi MTT menjadi formazan. Pengujian sitotoksik ekstrak fraksinasi dilakukan pada konsentrasi 2000, 1000, 500, 250, 125, 62,5, 31,25 µg/mL dan doksorubisin pada konsentrasi 4; 2; 1; 0,5; 0,25; 0,125; 0,0625 µg/ml. Dari pengujian yang dilakukan diperoleh nilai IC₅₀ fraksi etil asetat ekstrak etanol akar pasak bumi dan doksorubisin terhadap sel limfosit masing-masing 44 µg/ml dan 1,1 µg/ml. Hasil uji kombinasi diperoleh nilai CI (*combination index*) tertinggi adalah pada konsentrasi kombinasi 22 µg/ml (fraksi etil asetat ekstrak etanol APB) dan 0,5547 µg/ml (doksorubisin) yaitu sebesar 73,282 (CI>1=antagonis). Hasil penelitian menunjukkan fraksi etil asetat ekstrak etanol akar pasak bumi memiliki toksisitas yang lebih rendah dibandingkan doksorubisin dan dapat digunakan untuk kombinasi pada kemoterapi dengan doksorubisin.

Kata Kunci : Akar pasak bumi, doksorubisin, uji sitotoksik, uji kombinasi, sel limfosit.

Abstract

*The cytotoxicity and combination test of ethyl acetate fraction of ethanolic extract of Pasak bumi roots (*Eurycoma longifolia* Jack.) and doxorubicin have been made to the normal lymphocyte cells in vitro. The tests were carried out by using MTT method. Principle of the MTT method is to measure the mitochondrial dehydrogenase activity in living cells that have the ability to convert MTT into formazan. Cytotoxicity test for fraction performed at concentrations of 2000;1000;500;250;125;62,5;31,25 µg/ml and the concentrations of doxorubicin at 4;2;1;0,5;0,25;0,125;0,0625 µg/ml. From the tests IC₅₀ values obtained ethyl acetate fraction of ethanolic extract of pasak bumi roots and doxorubicin against lymphocyte cells each 44 µg/ml and 1.1 µg/ml. The results of combination index (CI) value is 73,282 (CI>1= antagonist) at concentration of the combination 22 µg/ml for ethyl acetate fraction and 0,5547 for doxorubicin. The Results showed ethyl acetate fraction of ethanolic extract of the pasak bumi roots has lower toxicity than doxorubicin and it can be used for the combination chemotherapy with doxorubicin.*

Keywords : Pasak bumi roots, doxorubicin, Cytotoxicity test, combination test, lymphocyte cells

PENDAHULUAN

Usaha yang banyak dilakukan untuk mengobati kanker adalah dengan pemberian agen kemoterapeutik. Doksorubisin merupakan agen kemoterapi antikanker yang terbukti efektif digunakan pada terapi kanker secara luas (Frias, *et al.*, 2009), namun penggunaannya secara berkepanjangan dapat melemahkan sistem imunitas tubuh (Injac *et al.*, 2008; Zhang *et al.*, 2005; Patel *et al.*, 2007). Doksorubisin bekerja tidak selektif karena bersifat toksik baik pada sel kanker maupun sel normal, terutama sel normal yang kecepatan proliferasinya tinggi seperti pada sumsum tulang belakang (Bhinge *et al.*, 2012). Mekanisme toksisitas doksorubisin telah banyak diketahui (Minotti, *et al.*, 2004). Toksisitas kronis doksorubisin kemungkinan diperantarai oleh konversi metabolik doksorubisin menjadi doxorubicinol yang melibatkan berbagai enzim antara lain karbonil reduktase. Mekanisme utama toksisitas doxorubicinol terjadi karena interaksinya dengan besi dan pembentukan *reactive oxygen species* (ROS) yang merusak makromolekul sel (Minotti, *et al.*, 2004). Doksorubisin dengan adanya gugus quinon yang dimilikinya juga mampu menghasilkan radikal bebas baik pada sel normal maupun sel kanker (Gewirtz, 1999).

Doksorubisin dapat membentuk *intermediate* radikal semiquinon, yang dapat bereaksi dengan oksigen menghasilkan radikal anion superoksida, yang selanjutnya akan akan menghasilkan hidrogen peroksida dan radikal hidroksil yang menyerang DNA dan mengoksidasi basa pada DNA. Pembentukan radikal bebas ini secara signifikan distimulasi oleh interaksi antara doksorubisin dengan besi. Pertahanan enzimatik dalam sel seperti superoksid dismutase dan katalase merupakan hal penting untuk menjaga sel dari toksisitas doksorubisin (Bruton, *et al.*, 2005). Doksorubisin dapat mempengaruhi fungsi sistem imun tikus yang diinduksi kanker dengan menurunkan IL-2 dan produksi IFN- γ secara signifikan, sehingga menyebabkan penurunan sel sitotoksik NK, proliferasi limfosit, dan rasio sel limfosit TCD4+/CD8+ (Zhang *et al.*, 2005) serta meningkatkan ekspresi CD4 (Susilowati, 2013). Atas dasar itu maka perlu dicari alternatif berupa kombinasi antara obat herbal dan obat sintesis untuk mengatasi resistensi dan efek samping pada aplikasi penggunaannya.

Salah satu tanaman yang banyak diteliti saat ini adalah akar pasak bumi (*Eurycoma longifolia*, Jack.). Senyawa yang terkandung dalam *E. longifolia* adalah kuasinoid (Bedir, *et al.*, 2003 ; Chan *et al.*, 2005) serta alkaloid 9-metoksisantini-6-on (Nurhanan, *et al.*, 2005 ; Tan *et al.*, 2002), dan alkaloid canthinone (Choo and Chan, 2002). Akar pasak bumi mempunyai potensi sebagai antikanker dan kemopreventif. Pasak bumi adalah salah satu tanaman yang

telah digunakan sebagai obat untuk detoksikasi, antioksidan radikal bebas, serta antikanker (Ang, 2002; Sangat, 2000). Secara *in vitro*, ekstrak etanol akar pasak bumi memiliki aktivitas antiproliferatif terhadap sel MCF-7 dan T47D yang merupakan model sel kanker payudara (Nurhanan *et al*, 2005). Fraksi etil asetat ekstrak etanol akar pasak bumi mempunyai nilai IC₅₀ lebih kecil dibandingkan fraksi tak larut etil asetat, ekstrak etanol dan ekstrak kloroform yang diujikan pada sel T47D (Nurani, 2011). Kandungan *eurycomanone* pada *E. longifolia* juga dilaporkan mempunyai aktivitas imunomodulator (Ang *et al.*, 2002). Pasak bumi sebagai imunostimulator dapat mengaktifasi respon imun seluler oleh senyawa kuasinoidnya (Tee *et al.*, 2006). Dari uraian diatas perlu dilakukan uji sitotoksik fraksi etil asetat ekstrak etanol akar pasak bumi terhadap sel limfosit untuk mengetahui sifat sitotoksik fraksi tersebut terhadap sel normal dan untuk melihat potensi fraksi tersebut untuk meminimalisir efek samping doksorubisin jika dikombinasi dengan doksorubisin

Uji sitotoksitas fraksi etil asetat ekstrak etanol akar pasar bumi terhadap sel limfosit dilakukan dengan menggunakan metode MTT. Prinsip metode MTT adalah pengukuran yang dilakukan secara kolorimetri yang didasarkan terjadinya pembentukan garam formazan tidak larut berwarna ungu dari reaksi reduksi tetrazolium yang sifatnya larut dalam air dengan menghasilkan larutan berwarna kuning. Reagen MTT hanya bereaksi dengan sel yang masih hidup kemudian dipecah melalui reaksi reduksi oleh sistem reduktase suksinat tetrazolium membentuk formazan (Doyle and Griffiths, 2000).

Penelitian ini diharapkan memberikan hasil yang dapat membuktikan dan melihat dari aktivitas sitotoksik fraksi dan hal ini dapat menunjukkan akar pasak bumi mampu dijadikan sebagai pendamping obat kemoerapi.

BAHAN DAN METODE

Bahan dan Alat

Rotary Evaporator, Cawan Petri, Stirer, Haemocytometer, Sentrifuge, Sentrifuge, Panci Infus, Alat-Alat Gelas, Plate KLT, Chamber, Autoklaf, Oven, Inkubator CO₂, Laminar Air Flow Cabinet, Efendorf, Cell Counter, Microplate 96 Sumuran Dan Elisa Reader.

Serbuk akar pasak bumi (*Eurycoma longifolia* Jack), Doxorubicin (Actavis Indonesia), Etanol 70%, Etil Asetat, N-Heksan, MTT [3-(4, 5-Dimetiltiazol-2-Il)-2, 5-Difeniltetrazolium Bromida], NH₄Cl, FBS (Fetal Bovine Serum) 10%, Tripsin EDTA, DMSO, Akuades, RPMI 1640, PBS (Phospat Buffer Saline), Penisilin-Sterptomisin 1% V/V, Sds 10% dalam HCl 0,01 N, NaHCO₃, Fungison 0,5%(V/V) (Gibco).

Metode

1. Ekstraksi akar pasak bumi

Pembuatan ekstrak dilakukan dengan merendam 1 kg serbuk ke dalam etanol 70% analisis sebanyak 3 liter distirer selama 3 jam kemudian didiamkan selama 24 jam, kemudian maserat disaring menggunakan corong *buchner* yang telah dilapisi kertas saring. Filtrat diuapkan dengan *rotary evaporator* dengan suhu 60°C sampai diperoleh ekstrak kental (Nurani, 2011).

2. Pembuatan Fraksi Etil asetat

Pembuatan fraksi etil asetat dilakukan dengan cara 95% ekstrak etanol dilakukan partisi dengan etil asetat 1: 2,5 (ekstrak etanol : etil asetat). Partisi dilakukan 3x dan fraksi etil asetat dipekatkan. Fraksi etil asetat dikumpulkan dan kemudian dievaporator sampai diperoleh fraksi kental (Nurani, 2011).

3. Analisis kualitatif

Analisis kualitatif dengan metode KLT, dengan menotolkan tiga sampel ke dalam KLT berupa 1) fraksi tidak larut etil asetat, 2) fraksi larut etil asetat dan 3) ekstrak etanol 70% dielusi dengan fase diam menggunakan silica Gel F₂₅₄ dan fase gerak etil asetat analitik dan n-heksan analitik (1:1) dibandingkan dengan standar *euricumalone*. Hasil dilihat pada UV 254nm dan 366nm, kemudian di hitung nilai Rf (Nurani, 2012).

4. Isolasi Sel limfosit

Limfosit diisolasi dari limfa mencit. Limfa yang telah bersih dimasukkan ke dalam cawan petri steril kemudian ke dalam limfa disuntikkan spuit yang berisi medium komplit dan ditekan untuk mengeluarkan sel-sel limfosit. Setelah limfosit dikeluarkan dari limfa, kapsul limfa dibuang dan suspensi limfosit dimasukkan ke dalam tabung reaksi steril dan disentrifus pada 2500 rpm selama 5 menit. Supernatan dibuang, dan ditambahkan NH₄Cl untuk melisis eritrosit, lalu disentrifus pada 2500 rpm selama 5 menit. Supernatan dibuang, pelet dicuci dengan RPMI dan disentrifus pada 2500 selama 5 menit. Supernatan dibuang, endapan ditambahkan RPMI, lalu dihitung jumlah sel dengan menggunakan *haemocytometer*. Setelah dihitung suspensi sel siap dikultur pada mikropate 96 dengan volume 100 µL/sumuran di dalam inkubator CO₂ 5% 37°C selama 24 jam (Depamede, 2006).

5. Uji Sitotoksik Dengan Metode MTT Assay

Sampel akar pasak bumi dan doxorubicin 100 µl dalam media RPMI 1640 dengan konsentrasi fraksi etil asetat ekstrak etanol akar pasak bumi 2000; 1000; 500; 250; 125; 62,5; 31,25 µg/ml dan doxorubicin dengan konsentrasi 4; 2; 1; 0,5; 0,25; 0,125; 0,0625 µg/ml. Dimasukkan ke dalam plate 96 sumuran yang berbeda yang sudah berisi sel limfosit. Selanjutnya kultur inkubasi dalam inkubator CO₂ 5% selama 24 jam pada suhu 37°C. Masing-masing sumuran ditambahkan larutan 10 µl MTT 5 mg/ml. Kemudian plate yang telah

ditambahkan MTT diinkubasi lagi 4 jam pada suhu 37°C. Ditambahlan reagen stopper SDS 10% dalam asam klorida 0,01N sebanyak 100 µl pada tiap sumuran dan didiamkan sampai 24 jam. Selanjutnya diukur absorbansinya dengan microplate reader pada panjang gelombang 595 nm (Hay and Westwood, 2002; Nurani, 2011).

6. Uji Kombinasi fraksi etik asetat ekstrak etanol akar pasak bumi dan doksorubisin

Sel sebanyak 100 µl didistribusikan ke dalam plate 96 sumuran dan diinkubasi selama 24 jam untuk beradaptasi dan menempel di sumuran. Ambil plate yang telah berisi sel dari inkubator. Masukkan seri konsentrasi akar pasak bumi dan doxorubicin ke dalam sumuran masing-masing 50 µl dengan 4 seri konsentrasi terdiri dari : IC₅₀, ¾ IC₅₀, ½ IC₅₀, dan ¼ IC₅₀. Inkubasi selama 24 jam. Ditambahkan reagen MTT 50 µl ke setiap sumuran, termasuk kontrol media (tanpa sel). Inkubasi sel selama 4 jam di dalam inkubator (sampai terbentuk formazan ditambahkan stopper SDS 10% dalam 0,1N HCl. Baca absorbansi dengan ELISA reader pada panjang gelombang 595nm (Hay and Westwood, 2002; Nurani, 2011).

ANALISIS DATA

1. Uji sitotoksik

Parameter uji sitotoksisitas (IC₅₀) regresi linear hubungan antara log konsentrasi vs % kehidupan

$$\% \text{ kehidupan} = \frac{(\text{absorbansi pada perlakuan} - \text{absorbansi blanko})}{\text{absorbansi pada kontrol negatif} - \text{absorbansi blanko}} \times 100\%$$

2. Uji Kombinasi fraksi etil asetat ekstrak etanol akar pasak bumi dan doksorubisin

Perhitungan harga CI (*Combination Index*) menggunakan aplikasi *Compusyn*, dengan hasil data berupa *Combination index* pada seluruh perlakuan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Ekstrak etanol akar pasak bumi

Pembuatan ekstrak etanol akar pasak bumi dilakukan di laboratorium Fitokimia Fakultas Farmasi Universitas Ahmad Dahlan. Ekstrak akar pasak bumi dibuat dengan metode maserasi yaitu dengan cara perendaman dan pengadukan serbuk akar pasak bumi menggunakan cairan penyari etanol 70% selama 24 jam. Pelarut yang digunakan untuk ekstraksi adalah etanol 70%, pertimbangan menggunakan pelarut etanol 70% ini berdasarkan sifat etanol yang semipolar sehingga menguntungkan untuk menyari senyawa-senyawa yang sifatnya polar sampai nonpolar, termasuk diantaranya *euricumandone*. Berdasarkan penelitian (Nurani, 2011) disebutkan bahwa hasil IC₅₀ terlihat bahwa ekstrak etanol mempunyai efek sitotoksik yang lebih tinggi dibandingkan ekstrak kloroform dan ekstrak air pada sel T47D. Hal tersebut menunjukkan bahwa etanol merupakan pelarut yang mampu menyari zat aktif sitotoksik dalam tanaman akar

pasak bumi yang lebih baik dibandingkan kloroform dan air. Hasil rendemen yang diperoleh dari 1 kg serbuk akar pasak bumi adalah 2,99%. Secara organoleptis ekstrak yang diperoleh berwarna coklat gelap, kental, rasa pahit, dan mempunyai bau yang khas.

Fraksi etil asetat akar pasak bumi

Tahap selanjutnya dari penelitian ini adalah fraksinasi. Fraksinasi disini adalah proses pemisahan senyawa aktif dalam *crude extract* sampel berdasarkan tingkat kepolarannya. Dalam proses ini dilakukan fraksinasi dengan etil asetat. Pemilihan etil asetat atas dasar polaritas yang berbeda dari etanol sehingga diharapkan adanya pemisahan senyawa dalam ekstrak etanol. Selain itu alasan penggunaan fraksi etil asetat ekstrak etanol akar pasak bumi karena nilai IC_{50} fraksi etil asetat lebih kecil ($55,2 \pm 31,6 \mu\text{g/mL}$) dibandingkan fraksi tak larut etil asetat ($194,9 \pm 7,8 \mu\text{g/mL}$), ekstrak etanol ($167,7 \pm 76,7 \mu\text{g/mL}$) dan ekstrak kloroform ($370,0 \pm 70,4 \mu\text{g/mL}$) yang diujikan pada sel T47D (Nurani, 2011). Senyawa dengan IC_{50} yang lebih kecil, lebih mempunyai potensi untuk dikembangkan sebagai antikanker (Meiyanti, 2009). Namun selain pentingnya uji terhadap sel kanker juga perlu diujikan pada sel normal untuk melihat ketoksikan suatu senyawa pada sel normal.

Ekstrak yang diperoleh kemudian difraksinasi dengan etil asetat, sebanyak 95% dari ekstrak difraksinasi dengan etil asetat 1 : 2,5 (etil asetat : ekstrak), partisi dilakukan 3x dan fraksi etil asetat dipekatkan. Fraksi etil asetat dikumpulkan dan kemudian di *rotary evaporator* sampai diperoleh fraksi kental. Cara fraksinasi ini diharapkan mampu melarutkan zat-zat dengan optimal. Dalam penelitian ini diperoleh fraksi yang larut etil asetat dan tidak larut etil asetat, dengan rendemen fraksi yang larut etil asetat sebesar 19,73% dan yang tidak larut etil asetat 73,38%.

Uji kualitatif fraksi etil asetat ekstrak etanol akar pasak bumi

Uji kualitatif senyawa dengan metode KLT merupakan cara sederhana untuk mengidentifikasi suatu senyawa. Data yang diperoleh berupa harga R_f dan warna bercak kromatogram yang diperoleh dari pengembangan bercak pada plat kromatografi lapis tipis. Uji ini bertujuan untuk melihat kebenaran bahwa fraksi etil asetat akar pasak bumi mengandung senyawa *eurycomanone*. Pada uji ini gunakan fase diam silika gel G 245 yang telah ditotolkan sampel uji (fraksi etil asetat ekstrak etanol akar pasak bumi, fraksi tidak larut etil asetat ekstrak etanol akar pasak bumi dan ekstrak etanol akar pasak bumi) kemudian di kembangkan pada fase gerak etil asetat analitik dan n-heksane analitik dengan perbandingan 1 : 1. Hasil KLT yang diperoleh menunjukkan bahwa sampel berfluoresensi biru pada UV 254 nm dan berfluoresensi pada UV 366 nm. Nilai R_f hasil uji kualitatif akar pasak bumi dapat dilihat pada Gambar 1.

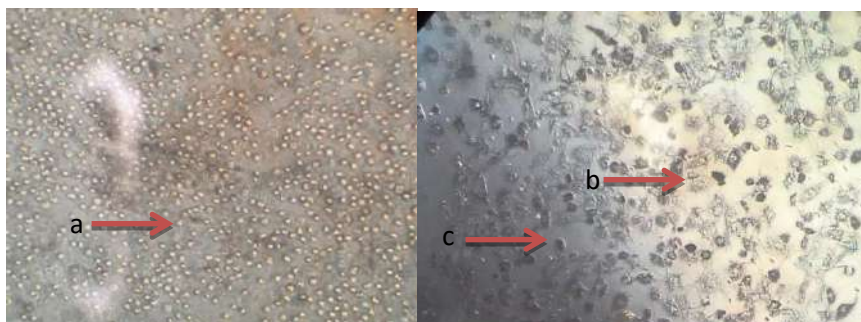


Gambar 1. Profil Kromatografi Lapis Tipis (UV 366nm) fraksi etil asetat ekstrak etanol akar pasak bumi pada a. Fraksi tidak larut etil asetat, b. Ekstrak etanol, c. Fraksi larut etil asetat.

Pada gambar diatas dapat dilihat bahwa adanya pemisahan komponen setelah dilakukan elusi dengan fase gerak etil asetat : n-heksan (1:1). Hal ini menunjukkan bahwa baik proses ekstraksi ataupun fraksinasi dapat menarik komponen-komponen zat aktif. Hasil profil kromatografi lapis tipis pada ekstrak etanol akar pasak bumi terlihat bercak yang lebih banyak dibandingkan dengan fraksi etil asetat dan fraksi tidak larut etil asetat, hal ini dimungkinkan karena pelarut etanol merupakan pelarut yang dapat menarik banyak senyawa, sedangkan etil asetat mempunyai kepolaran yang berbeda dengan etanol sehingga dapat menarik lebih sedikit senyawa yang sudah ada pada ekstrak etanol. Bercak pada fraksi etil asetat dan fraksi tidak larut etil asetat terlihat sama dengan nilai Rf bercak ketiga yaitu 0,55, namun yang membedakan bercak keduanya adalah ketajaman bercaknya, dimana bercak fraksi etil asetat lebih tajam dibandingkan fraksi tidak larut etil asetat. Pada penelitian ini yang akan digunakan sebagai bahan uji penelitian adalah fraksi etil asetat akar pasak bumi hal ini dikarenakan pada penelitian sebelumnya menyebutkan bahwa fraksi etil asetat akar pasak bumi mempunyai nilai ketoksikan yang lebih tinggi terhadap sel kanker T47D dibandingkan fraksi tidak larut etil asetat dan ekstrak etanol akar pasak bumi (Nurani, 2011).

Uji Sitotoksik Dengan Metode MTT Assay

Uji sitotoksik ini bertujuan untuk mengetahui efek sitotoksik fraksi etil asetat ekstrak etanol akar pasak bumi dan doksorubisin terhadap sel limfosit (sel normal). Uji sitotoksik merupakan orientasi awal untuk menentukan konsentrasi senyawa uji yang digunakan dalam uji selanjutnya seperti uji kombinasi. Hasil perlakuan dengan uji MTT pada penelitian ini dapat dilihat pada Gambar 1, terlihat gambaran kristal kristal berwarna ungu yang tidak larut dalam air tetapi larut dalam SDS 10% .



Gambar 1. Kristal formazan dilihat dari mikroskop dengan pembesaran 400 (a) sel sebelum diberi perlakuan MTT, (b) sel mati, (c) sel hidup.

Parameter yang digunakan untuk menyatakan potensi sitotoksik adalah harga IC_{50} (*Median Inhibitory Concentration*) yang merupakan manifestasi dari potensi ketoksikan (Srisawat, *et al.*, 2013; Masriani, 2014). Harga IC_{50} merupakan kadar yang mampu menghambat proliferasi sel sebesar 50% populasi. Harga IC_{50} diperoleh dengan metode regresi linear, dicari dari persamaan garis hubungan antara log konsentrasi vs % kehidupan yang dihasilkan, harga probit 5 dimasukkan ke dalam persamaan garis lurus sehingga diperoleh log kadar yang menyebabkan penghambatan 50% populasi sel (Agustini, 2012).

Alasan penggunaan fraksi etil asetat ekstrak etanol akar pasak bumi selain karena nilai IC_{50} fraksi etil asetat ekstrak etanol akar pasak bumi lebih kecil ($55,2 \pm 31,6 \mu\text{g/mL}$) dibandingkan fraksi tak larut etil asetat ($194,9 \pm 7,8 \mu\text{g/mL}$), ekstrak etanol ($167,7 \pm 76,7 \mu\text{g/mL}$) dan ekstrak kloroform ($370,0 \pm 70,4 \mu\text{g/mL}$) yang diujikan pada sel T47D (Nurani, 2011). Senyawa dengan IC_{50} yang lebih kecil, lebih mempunyai potensi untuk dikembangkan sebagai antikanker (Meiyanto, 2011), selain itu *American National Cancer Institute* (NCI) juga menyebutkan bahwa kriteria ketoksikan suatu senyawa terhadap sel kanker dimana nilai $IC_{50} \leq 20 \mu\text{g/ml}$ = sangat aktif, $IC_{50} 21-200 \mu\text{g/ml}$ = cukup aktif, $IC_{50} 201-500 \mu\text{g/ml}$ = lemah (Srisawat, *et al.*, 2013). Berdasarkan penelitian Nurani (2011) nilai IC_{50} pada fraksi etil asetat termasuk dalam kategori cukup aktif berpotensi untuk sitotoksik kanker dibandingkan dengan fraksi tidak larut etil asetat dan ekstrak etanol dari akar pasak bumi. Kategori nilai IC_{50} oleh NCI tersebut juga menggambarkan bahwa semakin kecil nilai IC_{50} maka semakin toksik senyawa tersebut

dan sebaliknya semakin besar nilai IC_{50} maka semakin kecil potensinya ketoksikannya. Namun selain pentingnya uji terhadap sel kanker juga perlu diujikan pada sel normal untuk melihat ketoksikan suatu senyawa pada sel normal, sehingga pada penelitian ini dilakukan uji sitotoksik terhadap sel limfosit (sel normal), untuk melihat ketoksikan fraksi etil asetat akar pasak bumi terhadap sel limfosit dan membandingkan ketoksikannya dengan agen kemoterapi doksorubisin.

Senyawa dengan IC_{50} yang lebih besar mempunyai efek ketoksikan yang lebih rendah terhadap sel normal (Turalely, *et al* 2012; Meilanisa 2004; Nurani, 2011). Hasil IC_{50} fraksi etil asetat ekstrak etanol akar pasak bumi dan doksorubisin pada penelitian ini ditunjukkan pada Tabel 1.

Tabel 1. Nilai IC_{50} fraksi etil asetat ekstrak etanol akar pasak bumi dan doksorubisin pada sel limfosit

	Nilai IC_{50} ($\mu\text{g/mL}$)
Fraksi etil asetat ekstrak etanol akar pasak bumi	44
Doksorubisin	1,1

Dari hasil tersebut dapat disimpulkan bahwa nilai IC_{50} fraksi etil asetat ekstrak etanol akar pasak bumi (44 $\mu\text{g/mL}$) lebih besar dibandingkan dengan doksorubisin (1,1 $\mu\text{g/mL}$) berdasarkan hasil tersebut fraksi etil asetat ekstrak etanol akar pasak bumi mempunyai nilai IC_{50} yang lebih besar dibandingkan doksorubisin, hal ini menunjukkan bahwa doksorubisin mempunyai efek yang lebih toksik dibandingkan fraksi etil asetat ekstrak etanol akar pasak bumi terhadap sel limfosit. Hal ini mungkin doksorubisin bekerja tidak selektif karena bersifat toksik baik pada sel kanker maupun sel normal, terutama sel normal yang kecepatan proliferasinya tinggi seperti pada sumsum tulang belakang (Bhingge *et al.*, 2012). Mekanisme toksisitas doksorubisin telah banyak diketahui (Minotti, *et al*, 2004). Toksisitas kronis doksorubisin kemungkinan diperantarai oleh konversi metabolik doksorubisin menjadi doxorubicinol yang melibatkan berbagai enzim antara lain karbonil reduktase. Mekanisme utama toksisitas doxorubicinol terjadi karena interaksinya dengan besi dan pembentukan *reactive oxygen species* (ROS) yang merusak makromolekul sel (Minotti, *et al*, 2004). Doksorubisin dengan adanya gugus quinon yang dimilikinya juga mampu menghasilkan radikal bebas baik pada sel normal maupun sel kanker (Gewirtz, 1999). Doksorubisin dapat membentuk *intermediate* radikal semiquinon, yang dapat bereaksi dengan oksigen menghasilkan radikal anion superoksida, yang selanjutnya akan akan menghasilkan hidrogen

peroksida dan radikal hidroksil yang menyerang DNA dan mengoksidasi basa pada DNA. Pembentukan radikal bebas ini secara signifikan distimulasi oleh interaksi antara doksorubisin dengan besi. Pertahanan enzimatis dalam sel seperti superoksida dismutase dan katalase merupakan hal penting untuk menjaga sel dari toksisitas doksorubisin (Bruton, *et al.*, 2005). Hasil uji sitotoksik ini akan menjadi acuan untuk uji selanjutnya yaitu uji kombinasi fraksi etil asetat ekstrak etanol akar pasak bumi dengan doksorubisin.

Uji Kombinasi Fraksi etil asetat ekstrak Etanolik akar pasak bumi dan Doksorubisin Terhadap Sel Limfosit

Penggunaan fraksi etil asetat ekstrak etanol akar pasak bumi bertujuan untuk ko-kemoterapi atau pendamping kemoterapi yang bertujuan untuk meminimalisir efek samping yang disebabkan oleh agen kemoterapi. Hasil uji sitotoksik yang dilakukan menunjukkan bahwa fraksi etil asetat ekstrak etanol akar pasak bumi mempunyai nilai IC_{50} yang lebih besar dibandingkan doksorubisin pada sel limfosit hal ini menunjukkan bahwa doksorubisin lebih toksik dibandingkan fraksi etil asetat ekstrak etanol akar pasak bumi. Oleh karena itu, dilakukan uji kombinasi untuk mengetahui konsentrasi kombinasi terbaik yang akan digunakan untuk uji selanjutnya yaitu uji imunositokimia. Pada uji ini dilakukan pada 4 konsentrasi yaitu IC_{50} , $3/4 IC_{50}$, $1/2 IC_{50}$, $1/4 IC_{50}$.

Tabel 2. Konsentrasi pada uji kombinasi fraksi etil asetat ekstrak etanol akar pasak bumi dan doksorubisin pada sel limfosit

Konsentrasi	Fraksi etil asetat ekstrak etanol akar pasak bumi ($\mu\text{g/mL}$)	Doksorubisin ($\mu\text{g/mL}$)
IC_{50}	44	1,1094
$3/4 IC_{50}$	33	0,83205
$1/2 IC_{50}$	22	0,5547
$1/4 IC_{50}$	11	0,27735

Perlakuan pada uji kombinasi sama dengan uji sitotoksik yaitu dengan menggunakan uji MTT tetapi sampel yang digunakan merupakan sampel kombinasi antara fraksi etil asetat ekstrak etanol akar pasak bumi dengan doksorubisin. Hasil dilihat dari intensitas warna ungu ditetapkan secara spektrofotometri dengan *microplate reader* pada panjang gelombang 550 nm, setelah diperoleh absorbansi dihitung % kehidupan kemudian dianalisis dengan menggunakan *software Compusyn* untuk memperoleh nilai *combination index* (CI). Nilai $CI=1$ menginterpretasikan kinerja yang aditif antar 2 kombinasi sampel, $CI < 1$ sinergis dan, $CI > 1$ antagonis (Chou, 2010). Hasil analisis uji kombinasi dengan *Compusyn* dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Hasil uji kombinasi fraksi etil asetat ekstrak etanol akar pasak bumi dengan doksorubisin pada sel limfosit

Knsentrasi APB ($\mu\text{g/ml}$)	Konsentrasi Doksorubisin ($\mu\text{g/ml}$)	Efek	CI
44,0	1,1094	0,9244	5,25609
44,0	1,1094	0,8588	2,23785
33,0	1,1094	0,6722	20,3126
33,0	1,1094	0,9647	34,1302
22,0	1,1094	0,8487	2,12344
22,0	1,1094	0,7277	10,8117
11,0	1,1094	0,642	27,9530
11,0	1,1094	0,8386	2,31810
44,0	0,83205	0,7226	8,66038
44,0	0,83205	0,8487	1,95663
33,0	0,83205	0,8739	1,61079
33,0	0,83205	0,8185	2,55427
22,0	0,83205	0,9395	4,91874
22,0	0,83205	0,9445	6,26989
11,0	0,83205	0,8689	1,15286
11,0	0,83205	0,9193	1,27569
11,0	0,83205	0,7731	4,55926
44,0	0,5547	0,5361	39,9340
44,0	0,5547	0,8134	1,96454
33,0	0,5547	0,6268	16,3581
33,0	0,5547	0,6066	20,0574
33,0	0,5547	0,3898	164,591
22,0	0,5547	0,7126	6,47401
22,0	0,5547	0,9899	763,282
11,0	0,5547	0,647	13,2701
11,0	0,5547	0,9849	124,461
44,0	0,26635	0,9444	12,3125
44,0	0,26635	0,884	1,56503
33,0	0,26635	0,6823	4,39220
33,0	0,26635	0,4806	32,6109
22,0	0,26635	0,6319	7,45885
22,0	0,26635	0,7176	2,95058
11,0	0,26635	0,92436	1,30934
11,0	0,26635	0,768	1,58507

Doksorubisin pada penelitian ini digunakan untuk menurunkan sistem imun (Injac *et al.*, 2008; Zhang *et al.*, 2005; Patel *et al.*, 2007) dan fraksi etil asetat ekstrak etanol akar pasak bumi digunakan untuk meningkatkan sistem imun (Ang *et al.*, 2002; Nurani, 2011) untuk mengatasi efek samping dari doksorubisin. Pada penelitian ini kedua senyawa tersebut mempunyai kerja yang berlawanan. Sehingga hasil CI yang akan digunakan untuk uji selanjutnya adalah hasil CI tertinggi (>1) atau yang menunjukkan efek antagonis (Chou, 2010). Dari hasil analisis *compusyn* ditunjukkan bahwa kombinasi 22,0 $\mu\text{g/mL}$ fraksi etil asetat ekstrak etanol akar pasak

bumi dan 0,5547 µg/mL dokсорubisin menunjukkan nilai CI tertinggi yaitu sebesar 763,282 (CI>1) hal ini menunjukkan bahwa kombinasi tersebut mempunyai efek antagonis terhadap sel normal, dimana dokсорubisin dapat berefek toksik terhadap sel normal dan fraksi etil asetat ekstrak etanol akar pasak bumi dapat meminimalisir efek samping dokсорubisin tersebut

Kesimpulan

Nilai IC₅₀ fraksi etil asetat ekstrak etanol akar pasak bumi (44 µg/mL) lebih besar dibandingkan dengan dokсорubisin (1,1 µg/mL). Kombinasi 22,0 µg/mL fraksi etil asetat ekstrak etanol akar pasak bumi dan 0,5547 µg/mL dokсорubisin menunjukkan nilai CI tertinggi yaitu sebesar 763,282 (CI>1) hal ini menunjukkan bahwa kombinasi tersebut mempunyai efek antagonis terhadap sel normal.

Saran

Perlu dilakukan penelitian proliferasi limfosit secara bersamaan dengan uji sitotoksik dan uji kombinasi fraksi etil asetat ekstrak etanol akar pasak bumi dan dokсорubisin.

Ucapan Terima kasih

Terima kasih kepada DIKTI atas program Hibah Tim Pascasarjana tahun anggaran 2014/2015.

DAFTAR PUSTAKA

- Agustini, N. W. S. 2012. Aktivitas Antioksidan Dan Uji Toksisitas Hayati Pigmen Fikobiliprotein Dari Ekstrak Spirulina Platensis. *Seminar Nasional IX pendidikan biologi FKIP UNS*. Surakarta, Indonesia
- Ang, H. H., Y. Hitotsuyanagi, et al. (2002). Quassinoids from *Eurycoma longifolia*. *Phytochemistry* 59(8): 833-837.
- Arifah, A. N., Nurkhasanah, 2014, Efek Fraksi Etil Asetat Ekstrak Etanol Akar Pasak Bumi (*Eurycoma Longifolia*, Jack) terhadap Aktivitas Fagositosis Makrofag Secara In Vitro, *Pharmaciana*, Vol. 4, No. 1, 2014: 9-14
- Beddir, E., Abou-Gazar, H., Ngwendson, J.N., and Khan I.A., 2003, Eurycomanoside: A new quassinoid from the roots of *Eurycoma longifolia* Jack, *Chem. Pharm. Bull.* 51(11): 1301-1303
- Bhinge, K., and Gupta, V., 2012, The Opposite Effects of Doxorubicin on Bone Marrow Stem Cells Versus Breast Cancer Stem, *International Journal Biochemistry Cellular Biology*, 44(11): 1770-8.
- Bruton, L., Lazo, J. S., and Parker, K. L., 2005, *Goodman & Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics*, 11th Edition, McGrawHill, Lange
- Chan, K., L., Choo, C., Y., Abdullah, N., R., and Ismail, Z., 2005, Semisynthetic 15-O-acyl- and 1,15-di-O-acyleurycomanones from *Eurycoma longifolia* as potential antimalarials, *Plan Med*, 71 (10): 967-9
- Choo, C.Y. and Chan, K.L. 2002. The Toxicity of some quassinoids from *Eurycoma longifolia*, *Planta Medica*, 68: 662-664
- Chou, T.C., 2010. Drug Combination Studies and Their Synergy Quantification Using the Chou-Talalay Method. *American Association for Cancer Research*. 443.
- Depamede, S.N., 2006. Isolation and characterisation of the immunosuppressive peptides in the rats testis. *Thesis*. University of Adelaide.

- Doyle, A., dan Griffiths, J. B. 2000. *Cell and Tissue Culture for Medical Research*. John Willey and Sons Ltd. : New York
- Frias, M. A., Lang, U., Gerber-Wicht, C., and James, R. W., 2009, Native and Reconstituted HDL Protect Cardiomyocytes from Doxorubicin-Induced Apoptosis, *Cardiovascular Research*, 25(6):36-42.
- Gewirtz, D.A., 1999, A critical evaluation of the mechanisms of action proposed for the antitumor effects of the anthracycline antibiotics adriamycin and daunorubicin, *Biochemistry Pharmacology*, 57:727-741.
- Hay, F.C. & Westwood, O.M.R., 2002, *Practical Immunology* Fourth edition, Blackwell Science, Oxford
- Injac, R., M. Perse., N. Obermajer., V. D. Milic., M. Prijatelj., A. Djordjevic., A. Cerar., B. Strukelj., 2008, Potential hepatoprotective effects of fullereneol C60 (OH) 24 in doxorubicin-induced hepatotoxicity in rats with mammary Carcinomas, *Biomaterials* 29(24-25): 3451-3460.
- Masriani, Mustofa, Jumina, Sunarti, Enawaty, E., 2014, Cytotoxic and pro-apoptotic activities of crude alkaloid from root of sengkubak (*Pycnarrhena cauliflora* (Miers) Diels) in human breast cancer T47D cell line, *Scholars Academic Journal of Biosciences (SAJB)*, 2(5): 336-340.
- Meiyanto, 2009, Prosedur Tetap Pengamatan Ekspresi Protein dengan Metode Imunohistokimia, *CCRC*, 03-012-01
- Meiyanto, E., A. Fitriyani., A. Hermawan., S. Junedi., R. A. Susidarti., 2011, The improvement of doxorubicin activity on breast cancer cell lines by tangeretin through cell cycle modulation, *Oriental Pharmacy Experimental Medicine*, 11:183–190.
- Melannisa, R., 2004, Pengaruh PGV-1 Pada Sel Kanker Payudara Yang Diinduksi 17 β -Estradiol: Kajian Antiproliferasi, Pemacuan Apoptosis dan Antiangiogenesis, *Tesis*, Sekolah Pascasarjana, UGM, Yogyakarta
- Minotti, G., Menna, P., Salvatorelli, E., Cairo, G., and Gianni, L. 2004. Anthracyclins: Molecular Advances and Pharmacologic Developments in Antitumor Activity and Cardiotoxicity. *Pharmacology Review*, 56:185-228.
- Nurani, L. H., 2011, Mekanisme Molekuler Kemopreventif dan Antikanker Senyawa Aktif Akar Pasak Bumi (*Eurycoma longifolia* Jack) Kajian *In Vitro* pada sel T47D dan *In Vivo* pada Kanker Payudara pada Tikus SD yang diinduksi DMBA, *Disertasi* Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta
- Nurhanan, M.Y, Hawairiah, A., Ilham, M.A., and Shukri, M., 2005, Cytotoxic effects of the root extracts of *Eurycoma longifolia* Jack, *Phytother Res*, 19: 994-996.
- Patel, D., and Shukla, 2007. Apigenin and Cancer Chemoprevention: Progress, Potensial, Promise (Review). *Internasional Journal Oncology*. 30: 233-45.
- Sangat, H.M., Zuhud, E.A.M. dan Damayanti, E.K. 2000. *Kamus Penyakit dan Tumbuhan Obat Indonesia*. Jakarta: Yayasan Obor Indonesia
- Srisawat, T., Chumkaew, P., Heed-Chim, W., Sukpondma, Y., and Kanokwiroon, K., Phytochemical screening and cytotoxicity of crude extracts of *Vatica diospyroides* symington type LS, *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, vol. 12, no. 1, pp. 71–76, 2013.
- Susilowati, A., 2013, Efek Ekstrak Etanol Akar Paaak Bumi (*Eurycoma longifolia* Jack) Terhadap Ekspresi Protein CD4 pada Organ Hati Tikus *Sprague Dawley* yang Diberikan *Doxorubicin*, *Skripsi*, Universitas Ahmad Dahlan, Yogyakarta.
- Tan, H.T., and Raharja, K, 2002, *Obat-Obat Penting, Khasiat, Penggunaan, dan Efek-Efek sampingnya*, PT. Alex Media Komputindo Kelompok Gramedia, Jakarta, Hal 810.
- Tee, T. T. and H. L. P. Azimahtol (2005). Induction of apoptosis by *Eurycoma longifolia* Jack extracts. *Anticancer research* 25(3B): 2205-2213

- Turalely, R., Hadanu, R., Mahulete, F., 2012, Uji Aktivitas Sitotoksik Dan Analisis Fitokimia Ekstrak Daun Kapur (*Harmsiopanax aculeatus* Hamrs), *Prosiding Insinas*, 1059
- Zhang XY, Li WG, Wu YJ. 2005. Amelioration of doxorubicin-induced myocardial oxidative stress and immunosuppression by grape seed proanthocyanidins in tumour-bearing mice. *Journal Pharmacy Pharmacology* , 57, 1043-52.

The Effect of the Combination of Ethyl Acetic Fraction of Pasak Bumi Root and Doxorubicin on Leucocytes Concentration and Eritrosyt on the DMBA Induced - SD mice

Laela Hayu Nurani, Sitarina Widyasari
Faculty of Pharmacy Ahmad Dahlan University
Jl. Prof. Dr. Soepomo, Janturan, Yogyakarta, Telp. (0274) 379418

Abstrak

One of the carcinogenic substances which cause cancer is *7,12-dimetilbenz (α) antrasen* (DMBA). DMBA will be metabolized to form an active metabolite, *epoxide dihidrodriol*, which is carcinogenic. A chemotherapy agent which is usually used in breast cancer is doxorubicin. The use of doxorubicin influence immune system by reducing interferon- γ (IFN- γ) production therefore reduces eritropoesis and limfosit, monosit and neutrofil production therefore depressing immune system. To maximize therapy and minimize adverse effect, chemotherapy agent can be combined with Pasak Bumi root which empirically used as detoxificatation, aphrodisiac, immune stimulant and anticancer.

This study aims to evaluate the effect of the combination of ethil asetic fraction of Pasak Bumi Root and doxorubicin on the leucosit and eritrosit concentration on DMBA induced SD mice. This is an experemetal desaign with 5 experemintal groups. Each group consist of 7 white female Sprague Dawley. Group 1 (Baseline) was only given regular feeding and drink, group 2 (doxorubicin group) was given intraperitoneal doxorubicin 4,67 mg/kgBW, group 3 (negative control group) was given twice weekly oral DMBA20 mg/kgBW, group 5 was given DMBA+Ekstrak 100 mg/kg BW, group 4 was given DMBA+Doxorubicin 4,67 mg/kg BW, and group 5 was given DMBA+Doxorubicin+Ekstrak

The result shown that the leucocyt concentration in Group 1: 12325; Group 2 : 7513 ; Group 3: 7345; Group 4 : 8715; Group 5: 8195 and the eritrosit concentration on Group 1: 7,71; Group 2: 7,691 ; Group 3: 7,715; Group 4: 7,74 and Group 5 : 6,995. It can be concluded that ethyl asetic fraction of Pasak Bumi root can increase leucocyt and eritrocyt because it has bioactive compound which is quarsinoid. The quarsinoid mechanism as immunomodulator is by increasing IL-12 secretion in vitro. The biological effect of IL-12 is by stimulating eritropoesis as well as increasing limfosit, monosit and neutrofil production.

Keywords : Cancer, DMBA, *Eurycomanone*, leucosyt

**PENGARUH PEMBERIAN KOMBINASI FRAKSI ETIL ASETAT AKAR PASAK
BUMI DOXORUBICIN TERHADAP TIKUS PUTIH BETINA YANG DIINDUKSI 7,12
DIMETILBENZ(α)ANTRASEN (DMBA)**

Laela Hayu Nurani¹, Achmad Mursyidi¹, Sita Rina²

²Fakultas Farmasi Universitas Ahmad Dahlan

³Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Gadjah Mada

laelafarmasi@gmail.com

Abstrak

Akar pasak bumi mengandung senyawa kuasinoid yang mempunyai efek penghambatan karsinogenesis, imunomodulator, antiulcer, dan antimalaria. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian kombinasi fraksi etil asetat akar pasak bumi dan Doxorubicin terhadap tikus putih yang diinduksi DMBA yang dilihat dari pengamatan berat badan dan palpasi. Tikus dibagi menjadi 8 kelompok perlakuan. Masing-masing kelompok terdiri dari 7 ekor tikus putih betina *Sprague dawley*. Kelompok 1 (Baseline) hanya diberi pakan dan minum, kelompok 2 diberikan fraksi etil asetat akar pasak bumi (100 mg/kgBB), kelompok 3 (kontrol positif) diberikan doxorubicin (1,17 mg/kgBB) 1 kali seminggu selama 5 minggu, kelompok 4 diberikan DMBA (20 mg/kgBB) 2 kali seminggu selama 5 minggu, kelompok 5 diberikan DMBA (20 mg/kgBB)+doxorubicin (1,17 mg/kgBB), kelompok 6 diberikan DMBA (20 mg/kgBB)+fraksi etil asetat akar pasak bumi (100 mg/kgBB), kelompok 7 diberikan DMBA (20 mg/kgBB)+Doxorubicin (1,17 mg/kgBB)+fraksi etil asetat akar pasak bumi (100 mg/kgBB), kelompok 8 Doxorubicin (1,17 mg/kgBB)+fraksi etil asetat akar pasak bumi (100 mg/kgBB). Kemudian dilakukan pengamatan terhadap berat badan tikus dan pengamatan kejadian tumor dengan dilakukan palpasi pada minggu ke-6 perlakuan. Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan bahwa pemberian kombinasi fraksi etil asetat akar pasak bumi dan Doxorubicin dapat meningkatkan berat badan hewan uji serta pemberian kombinasi fraksi etil asetat dan Doxorubicin menyebabkan tingginya tingkat kematian hewan uji yang disebabkan karena ketoksikan dari keduanya.

Kata kunci: akar pasak bumi (*Eurycoma longifolia* Jack), DMBA, Berat badan, Kanker

Pendahuluan

Kanker payudara merupakan kanker terbanyak kedua sesudah kanker leher rahim di Indonesia (Tjindarbumi dan Mangunkusumo,2001). Senyawa karsinogen yang dapat menyebabkan kanker salah satunya yaitu 7,12 dimethylbenzanthracena (DMBA) (Hodgson et al.,2001). DMBA ini selain bersifat genotoksik karsinogen juga terbukti bersifat imunotoksik dan hematotoksik (Gao et al.,2005; Melendez-colon et al.,1999;2000).

Pengobatan kanker payudara ini dilakukan dengan kemoterapi menggunakan obat sitostatika (doxorubicin). Obat sitostatika bekerja dengan mempengaruhi metabolisme asam nukleat terutama DNA atau biosintesis protein (Siswandono *et al.*, 2000). Dalam suatu penelitian yang didapatkan persentase pasien yang mengalami efek samping dari kemoterapi yang dijalannya yaitu kerontokan rambut sebanyak 89%, mual 87%, lelah 86%, muntah 54%, gangguan tidur 46%, peningkatan berat badan 45%, sariawan 44%, kesemutan 42%, gangguan pada mata 38%, diare 37%, konstipasi 19 %,

kemerahan pada kulit 18% dan penurunan berat badan 13%. Baik berat badan maupun tinggi badan, keduanya terkait dengan kanker payudara. Indeks obesitas terkait dengan resiko kanker payudara. Selain itu pada obesitas, distribusi lemak tubuh juga mempunyai peran sendiri pada kanker payudara. Jaringan lemak bagian atas (sentral atau abdominal) meningkatkan resiko kanker payudara.

Saat ini pengembangan dalam upaya pencegahan dan penundaan proses karsinogenesis serta pengurangan kanker untuk terjadi kembali, dapat dilakukan melalui suatu senyawa kemopreventif maupun agen imunomodulator. Penemuan senyawa kemopreventif maupun agen imunomodulator berawal dari pengamatan kebiasaan pola konsumsi makanan yang ternyata dapat mengurangi resiko terkena kanker.

Beberapa aktivitas akar psak bumi ini telah banyak dilaporkan berdasarkan kandungan kimianya antara lain kuasinoid yang memiliki efek antiulcer (Tada et al.,1991), sitotoksik terhadap sel kanker A-549,MCF-7 dan antimalaria (Kuo et

al.,2004). Kandungan utama dari kuasinoid adalah eurikomanon. Eurikomanon telah dilaporkan berefek sitotokik terhadap sel Hela (sel kanker leher rahim) melalui mekanisme pemacuan p53 (Nurkhasanah and Azimahtol, 2008). Aktivitas zat aktif kuasinoid ekstrak akar pasak bumi sebagai antikanker diduga melalui mekanisme pemacuan apoptosis atau penghambatan proliferasi sel kanker dengan melibatkan kerja enzim-enzim antioksidan dan respon imun seluler (Tee and Hwariah,2006). Dan aktivitas zat aktif kuasinoid ekstrak akar pasak bumi sebagai imunomodulator dengan meningkatkan sekresi IL-12 secara *in vitro* (Nurani *et al*, 2010) serta ekstrak akar pasak bumi tidak toksik (LD50=7498,94 mg/kg BB). Mengalami peningkatan berat badan tikus putih terjadi pada dosis, 25, 75 dan 225 mg/ml ([Rumaisa](#), 2011).

Penelitian ini bertujuan untuk melihat pengaruh pemberian kombinasi fraksi etil asetat akar pasak bumi dan Doxorubicin pada tikus putih yang telah diinduksi DMBA yang dilihat dari pengamatan berat badan dan palpasi (pertumbuhan tumor).

Metode Penelitian

Bahan dan Alat

Bahan uji yang digunakan adalah akar pasak bumi pasak bumi *Eurycoma longifolia* Jack yang diperoleh dari daerah Kalimantan dan bahan yang digunakan untuk fraksinasi adalah kloroform, etanol 70%, dan akuades.

Bahan uji antikarsinogenesis adalah ekstrak etanol akar pasak bumi, aquadest, 7,12-dimetilbenz(α)antrasen (DMBA), corn oil sebagai pelarut DMBA, CMC Na 0,5%, Doxorubicin

Hewan uji yang digunakan adalah tikus betina Spague Dawley umur 1 bulan dengan berat yang hamper sama dan dalam kondisi sehat yang diperoleh dari UGM.

Alat yang digunakan untuk membuat ekstrak etanol akar pasak bumi adalah panifusa, alat-alat gelas, corong Buncher, penangas air, timbangan analitik, thermometer.

Alat yang digunakan untuk uji karsinogenesis adalah spuit injeksi, jarum oral untuk tikus, seperangkat alat bedah (pinset, scalpel, blade, gunting), neraca elektrik (Shimadzu,type LS-6DT).

Jalan Penelitian

Penelitian ini dibagi menjadi 2 tahap yaitu pembuatan ekstrak etanol akar pasak bumi (*E.longifolia* Jack) dan uji karsinogenesis.

1. Pembuatan fraksi etil asetat dari akar pasak bumi bumi (*E.longifolia* Jack)

a. Identifikasi tanaman

Identifikasi tanaman pasak bumi (*E.longifolia* Jack) dilakukan di Laboratorium Biologi Fakultas Farmasi Universitas Ahmad Dahlan Yogyakarta.

b. Pembuatan serbuk simplisia

Bahan yang telah di peroleh, dipilih yang tidak rusak. Akar dicuci dengan air mengalir, lalu dikeringkan di bawah sinar matahari tidak langsung dengan ditutup kain hitam. Akar yang telah kering disortasi kering kemudian dihaluskan dengan cara di blender sampai didapat serbuk yang halus.

c. Pembuatan fraksi etil asetat akar pasak bumi

Pembuatan fraksi etil asetat akar pasak bumi ini dilakukan di Laboratorium Obat Tradisional UAD. Serbuk kering *E.longifolia* 100 gram kemudian diekstraksi secara terpisah dengan pelarut kloroform, etanol 70%, dan akuades. Volume pelarut yang digunakan masing-masing sebanyak 1000 mL menggunakan metode maserasi.

Setiap hari dilakukan pengadukan selama tiga jam. Maserasi dilakukan selama tiga hari kemudian disaring sehingga didapat maserat. Maserat yang diperoleh selanjutnya disaring dengan corong *Buchner* dan filtrat diuapkan menggunakan *rotary evaporator*.

2. Uji antikarsinogenesis

a. Persiapan hewan uji

Tikus dipelihara dalam ruangan berventilasi cukup, makanan dalam bentuk pellet dan minuman air secukupnya, hewan diadaptasikan dalam kandang selama 1 minggu sebelum perlakuan

b. Pembuatan larutan karsinogen (DMBA dalam corn oil)

7,12-Dimetilbenz(α) antrasen (DMBA) sesuai dengan dosis dilarutkan dalam corn oil sehingga jika larutan diberikan pada hewan uji secara peroral tidak melebihi volume maksimal yang diperoleh. Larutan DMBA dalam corn oil selalu dibuat baru, sebelum pemberian terhadap hewan uji.

c. Pembuatan larutan uji (ekstrak etanol akar pasak bumi dalam CMC Na 0,5%).

Ekstrak etanol akar pasak bumi sesuai dengan dosis disuspensikan dalam larutan CMC Na 0,5% sehingga jika larutan ini diberikan kepada hewan uji secara peroral tidak melebihi volume maksimal yang diperoleh. Larutan fraksi etil asetat akar pasak bumi dalam CMC Na 0,5% selalu dibuat baru sebelum pemberian terhadap hewan uji.

- d. Induksi karsinogenesis dengan DMBA dan perlakuan doxorubicin serta fraksi etil asetat akar pasak bumi Tikus betina Sprague Dawley berumur 1 bulan dibagi menjadi 8 kelompok masing-masing kelompok terdiri dari 7 ekor tikus putih betina *Sprague dawley*. Kelompok 1 (Baseline) hanya diberi pakan dan minum, kelompok 2 diberikan fraksi etil asetat akar pasak bumi dosis 100 mg/kgBB, kelompok 3 (kontrol

positif) diberikan doxorubicin dosis 1,17 mg/kgBB 1 kali seminggu selama 5 minggu, kelompok 4 diberikan DMBA dosis 20 mg/kgBB 2 kali seminggu selama 5 minggu, kelompok 5 diberikan DMBA 20 mg/kgBB+doxorubicin 1,17 mg/kgBB, kelompok 6 diberikan DMBA 20 mg/kgBB+fraksi etil asetat akar pasak bumi 100 mg/kgBB, kelompok 7 diberikan DMBA 20 mg/kgBB+Doxorubicin 1,17 mg/kgBB+fraksi etil asetat akar pasak bumi 100 mg/kgBB, kelompok 8 Doxorubicin 1,17 mg/kgBB+fraksi etil asetat akar pasak bumi 100 mg/kgBB pengamatan kejadian tumor dengan dilakukan palpasi pada minggu ke-6 perlakuan.

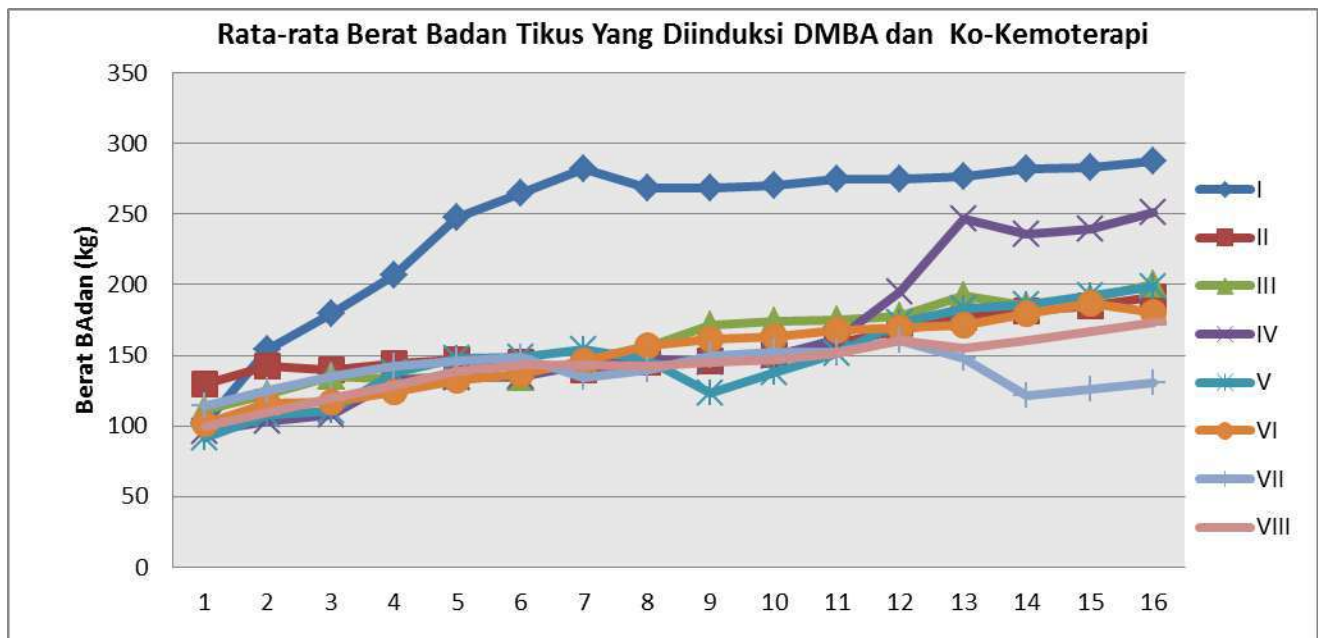
Tabel 1. Waktu pemberian DMBA dan perlakuan dengan Doxorubicin serta Fraksi Etil Asetat Akar Pasak bumi

Minggu	Fraksi Perlakuan	Kontrol Doxorubicin	Kontrol DMBA	Baseline
1-5			2 x 1 seminggu DMBA dalam <i>corn oil</i> secara oral	Pakan+aquadest
6-10	Setiap hari diberi fraksi etil asetat akar pasak bumi	Doxorubicin 1x 1 seminggu secara intraperitoneal		Pakan+aquadest

Hasil dan Pembahasan

Pengukuran terhadap berat badan hewan uji yang dilakukan setiap seminggu sekali. Hasil Pengukuran terhadap berat

badan hewan uji yang dilakukan menunjukkan kenaikan rata-rata berat badan pada seluruh kelompok perlakuan. Data selengkapnya dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Rata-Rata Berat Badan Tikus Yang Diinduksi DMBA dan Ko-Kemoterapi

Berdasarkan hasil pengamatan terhadap data berat badan hewan uji, masing-masing kelompok tidak mengalami penurunan setelah induksi DMBA sampai minggu ke-5. Pada beberapa penelitian lain umumnya rata-rata berat badan kelompok perlakuan lebih rendah dari kelompok

kontrol . Sedangkan pada penelitian yang telah dilakukan terjadi penurunan berat-badan sekitar minggu ke-9 paa kelompok V (DMBA+Doxorubicin) dan selanjutnya terjadi kenaikan yang tidak signifikan. Hal ini disebabkan oleh adanya efek samping

dari doxorubicin yang dapat menurunkan berat badan.

Pengamatan kejadian tumor dan palpasi yang dilakukan selama penelitian diperoleh data bahwa ditemukan adanya benjolan yang dapat teraba atau pertumbuhan tumor pada permukaan tubuh hewan uji dari kelompok hanya yang diinduksi DMBA walaupun nodul hanya

teraba pada beberapa tikus saja. Sedangkan dari hasil palpasi terhadap organ mamae setelah dilakukannya pembedahan terhadap hewan uji pada minggu ke 16 menunjukkan adanya nodul atau benjolan didaerah sekitar mamae pada beberapa tikus. Data pengamatan dapat dilihat pada Tabel 3 dan nodul yang terbentuk dapat dilihat pada Gambar 2.

Tabel 3. Jumlah Nodul Pada Setiap Kelompok

Kelompok	Jumlah Nodul Yang Terbentuk
I (Baseline)	0
II (Fraksi Etil Asetat Akar PASak Bumin)	0
III (Doxorubicin)	0
IV (DMBA)	1
V (DMBA+Doxorubicin)	3
VI (DMBA+ Fraksi Etil Asetat Akar Pasak Bumi)	1
VII (DMBA+ Fraksi Etil Asetat Akar Pasak Bumi +Doxorubicin)	1
VIII (Doxorubicin+ Fraksi Etil Asetat Akar Pasak Bumi)	0

Gambar 2. Nodul pada hewan uji yang terbentuk

Dari pengamatan jumlah kematian selama masa penelitian, pada kelompok VII (DMBA+Doxorubicin+Fraksi Etil Asetat Akar Pasak Bumi) memperlihatkan angka kematian yang paling besar dibandingkan dengan 0 kelompok lainnya dan kontrol. Kombiansi doxorubicin dan fraksi etil asetat akar pasak bumi diharapkan memiliki efek sinergisme, namun pada penelitian ini tidak terjadi hal tersebut dikarenakan tidak adanya indeks kombinasi sehingga menyebabkan munculnya ketoksikan pada hewan uji. Jumlah kematian hewan uji yang terjadi dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Jumlah Tikus Yang Mati Pada Masing-masing kelompok

Group	Mice Generated amount Nodules
I (Baseline)	0
II (Fraksi Etil Asetat Akar PASak Bumin)	0
III (Doxorubicin)	0
IV (DMBA)	0
V (DMBA+Doxorubicin)	0

VI (DMBA+ Fraksi Etil Asetat Akar Pasak Bumi)	2
VII (DMBA+ Fraksi Etil Asetat Akar Pasak Bumi +Doxorubicin)	6
VIII (Doxorubicin+ Fraksi Etil Asetat Akar Pasak Bumi)	2

Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan bahwa pemberian kombinasi fraksi etil asetat akar pasak bumi dan Doxorubicin dapat meningkatkan berat badan hewan uji serta pemberian kombinasi fraksi etil asetat dan Doxorubicin menyebabkan tingginya tingkat kematian hewan uji yang disebabkan karena ketoksikan dari keduanya.

Daftar pustaka

- Gao J, Lauer FT, Dunaway S, Burchiel SW., 2005. Cytochrome P450 1B1 is required for 7,12-dimethylbenz(a)-anthracene (DMBA) induced spleen cell immunotoxicity. *Toxicol Sci.* 86(1):68-74
- Hodgson E.,2001. In vitro human phase I metabolism of xenobiotics I : pesticides and related chemicals used in agriculture and public health, September 2001., *J Biochem Mol Toxicol.*, 15 (6), 296-299
- Kuo, P.-C., L.-S. Shi, A. G. Damu, et al., 2003, Cytotoxic and antimalarial β -carboline alkaloids from the roots of *Eurycoma longifolia*, *Journal of natural products*, **66**(10): 1324-1327.
- Melendez-colon, V.J.,Luch, A., Seidel, ., Baird, W.M., 2000. Formation of stable DNA adducts and apurinic sites upon metabolic activation of bay and fjord region polycyclic aromatic hydrocarbons in human cell cultures, *Chem Res Toxicol.*, 13 (1), 10-17
- Melendez-colon, V.J., Luch, A., SEIDEL, a., Baird, W.M., 1999. Cancer initiation by polycyclic aromatic hydrocarbons results from formation of stable DNA adducts rather than apurinic sites, *carcinogenesis*.20 (10), 1885-1891.
- Nurkhasanah Mahfudh1 and Azimahtol Hawariah Lope Pihie., 2008. Eurycomanone Induces Apoptosis through the Up-Regulation of p53 in Human Cervical Carcinoma Cells, *Journal of Cancer Molecules* 4(4): 109-115.
- Nurani, L.H., Utami, D., Salamah, N., 2011, The cytotoxic effect of isolate of Eurycomanone of Pasak Bumi (*Eurycoma longifolia* Jack) Roots to T47D cell lines, Proceeding, International Joint Symposium Faculty of Medicines Universitas Gadjah Mada.
- [Rumaisa Dhifa Mawaddah.](#), 2011. Uji toksisitas akut ekstrak akar pasak bumi (*eurycoma longifolia*. Jack) pada tikus putih (*rattus norvegicus*).
- Siswandono, Soekardjo, B., 2000, *Kimia Medisinal*, Edisi 2, Airlangga University, Surabaya
- Tada H, Yasuda F, Otani K, Doteuchi M, Ishihara Y, Shiro M, 1991, New antiulcer quassinoids from *Eurycoma longifolia*. *Eurycoma Journal Medical Chemistry*: 26, 345-349
- Tee, T.T. and Hawariah L.P.A. 2005. *Induction of Apoptosis by Eurycoma longifolia Jack Extracts*. *Anticancer Research*. 25: 2205- 2214.
- Tjiandarbuni, D.,and Mangunkusumo, R.,2001, Cancer In Indonesia Present and Future, Departements of Sugery and Pathologi, Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, Jakarta, Hal 1-21.

The Effect of the Combination of Ethyl Acetic Fraction of Pasak Bumi Root and Doxorubicin on Leucocytes Concentration and Eritrosyt on the DMBA Induced - SD mice

Laela Hayu Nurani, Sitarina Widyasari
Faculty of Pharmacy Ahmad Dahlan University
Jl. Prof. Dr. Soepomo, Janturan, Yogyakarta, Telp. (0274) 379418

Abstrak

One of the carcinogenic substances which cause cancer is 7,12-dimetilbenz (α) antrasen (DMBA). DMBA will be metabolized to form an active metabolite, *epoxide dihidrodriol*, which is carcinogenic. A chemotherapy agent which is usually used in breast cancer is doxorubicin. The use of doxorubicin influence immune system by reducing interferon- γ (IFN- γ) production therefore reduces eritropoesis and limfosit, monosit and neutrofil production therefore depressing immune system. To maximize therapy and minimize adverse effect, chemotherapy agent can be combined with Pasak Bumi root which empirically used as detoxificatation, aphrodisiac, immune stimulant and anticancer.

This study aims to evaluate the effect of the combination of ethil asesetic fraction of Pasak Bumi Root and doxorubicin on the leucosit and eritrosit concentration on DMBA induced SD mice. This is an experemental desaign with 5 experemental groups. Each group consist of 7 white female Sprague Dawley. Group 1 (Baseline) was only given regular feeding and drink, group 2 (doxorubicin group) was given intraperitoneal doxorubicin 4,67 mg/kgBW, group 3 (negative control group) was given twice weekly oral DMBA20 mg/kgBW, group 5 was given DMBA+Ekstrak 100 mg/kg BW, group 4 was given DMBA+Doxorubicin 4,67 mg/kg BW, and group 5 was given DMBA+Doxorubicin+Ekstrak

The result shown that the leucocyt concentration in Group 1: 12325; Group 2 : 7513 ; Group 3: 7345; Group 4 : 8715; Group 5: 8195 and the eritrosit concentration on Group 1: 7,71; Group 2: 7,691 ; Group 3: 7,715; Group 4: 7,74 and Group 5 : 6,995. It can be concluded that ethyl asetic fraction of Pasak Bumi root can increase leucocyt and eritrocyt because it has bioactive compound which is quarsinoid. The quarsinoid mechanism as immunomodulator is by increasing IL-12 secretion in vitro. The biological effect of IL-12 is by stimulating eritropoesis as well as increasing limfosit, monosit and neutrofil production.

Keywords : Cancer, DMBA, *Eurycomanone*, leucosyt

LAMPIRAN 3. Jurnal Nasional tidak terakreditasi Pharmacia

PENGARUH PEMBERIAN KOMBINASI FRAKSI ETIL ASETAT AKAR PASAK BUMI DOXORUBICIN TERHADAP TIKUS PUTIH BETINA YANG DIINDUKSI 7,12 DIMETILBENZ(α)ANTRASEN (DMBA)

Laela Hayu Nurani¹, Achmad Mursyidi¹, Sita Rina²

²Fakultas Farmasi Universitas Ahmad Dahlan

³Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Gadjah Mada

laelafarmasi@gmail.com

Abstrak

Akar pasak bumi mengandung senyawa kuasinoid yang mempunyai efek penghambatan karsinogenesis, imunomodulator, antiulcer, dan antimalaria. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian kombinasi fraksi etil asetat akar pasak bumi dan Doxorubicin terhadap tikus putih yang diinduksi DMBA yang dilihat dari pengamatan berat badan dan palpasi. Tikus dibagi menjadi 8 kelompok perlakuan. Masing-masing kelompok terdiri dari 7 ekor tikus putih betina *Sprague dawley*. Kelompok 1 (Baseline) hanya diberi pakan dan minum, kelompok 2 diberikan fraksi etil asetat akar pasak bumi (100 mg/kgBB), kelompok 3 (kontrol positif) diberikan doxorubicin (1,17 mg/kgBB) 1 kali seminggu selama 5 minggu, kelompok 4 diberikan DMBA (20 mg/kgBB) 2 kali seminggu selama 5 minggu, kelompok 5 diberikan DMBA (20 mg/kgBB)+doxorubicin (1,17 mg/kgBB), kelompok 6 diberikan DMBA (20 mg/kgBB)+fraksi etil asetat akar pasak bumi (100 mg/kgBB), kelompok 7 diberikan DMBA (20 mg/kgBB)+Doxorubicin (1,17 mg/kgBB)+fraksi etil asetat akar pasak bumi (100 mg/kgBB), kelompok 8 Doxorubicin (1,17 mg/kgBB)+fraksi etil asetat akar pasak bumi (100 mg/kgBB). Kemudian dilakukan pengamatan terhadap berat badan tikus dan pengamatan kejadian tumor dengan dilakukan palpasi pada minggu ke-6 perlakuan. Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan bahwa pemberian kombinasi fraksi etil asetat akar pasak bumi dan Doxorubicin dapat meningkatkan berat badan hewan uji serta pemberian kombinasi fraksi etil asetat dan Doxorubicin menyebabkan tingginya tingkat kematian hewan uji yang disebabkan karena ketoksikan dari keduanya.

Kata kunci: akar pasak bumi (*Eurycoma longifolia* Jack), DMBA, Berat badan, Kanker

Pendahuluan

Kanker payudara merupakan kanker terbanyak kedua sesudah kanker leher rahim di Indonesia (Tjindarbumi dan Mangunkusumo,2001). Senyawa karsinogen yang dapat menyebabkan kanker salah satunya yaitu 7,12 dimethylbenzanthracena (DMBA) (Hodgson et al.,2001). DMBA ini selain bersifat genotoksik karsinogen juga terbukti bersifat imunotoksik dan hematotoksik (Gao et al.,2005; Melendez-colon et al.,1999;2000).

Pengobatan kanker payudara ini dilakukan dengan kemoterapi menggunakan obat sitostatika (doxorubicin). Obat sitostatika bekerja dengan mempengaruhi metabolisme asam nukleat terutama DNA atau biosintesis protein (Siswandono *et al.*, 2000). Dalam suatu penelitian yang didapatkan persentase pasien yang mengalami efek samping dari kemoterapi yang dijalannya yaitu kerontokan rambut sebanyak 89%, mual 87%, lelah 86%, muntah 54%, gangguan tidur 46%, peningkatan berat badan 45%, sariawan 44%, kesemutan 42%, gangguan pada mata

38%, diare 37%, konstipasi 19 %, kemerahan pada kulit 18% dan penurunan berat badan 13%. Baik berat badan maupun tinggi badan, keduanya terkait dengan kanker payudara. Indeks obesitas terkait dengan resiko kanker payudara. Selain itu pada obesitas, distribusi lemak tubuh juga mempunyai peran sendiri pada kanker payudara. Jaringan lemak bagian atas (sentral atau abdominal) meningkatkan resiko kanker payudara.

Saat ini pengembangan dalam upaya pencegahan dan penundaan proses karsinogenesis serta pengurangan kanker untuk terjadi kembali, dapat dilakukan melalui suatu senyawa kemopreventif maupun agen imunomodulator. Penemuan senyawa kemopreventif maupun agen imunomodulator berawal dari pengamatan kebiasaan pola konsumsi makanan yang ternyata dapat mengurangi resiko terkena kanker.

Beberapa aktivitas akar psak bumi ini telah banyak dilaporkan berdasarkan kandungan kimianya antara lain kuasinoid yang memiliki efek antiulcer (Tada et

al.,1991), sitotoksik terhadap sel kanker A-549, MCF-7 dan antimalaria (Kuo et al.,2004). Kandungan utama dari kuasinoid adalah eurikomanon. Eurikomanon telah dilaporkan berefek sitotoksik terhadap sel Hela (sel kanker leher rahim) melalui mekanisme pemacuan p53 (Nurkhasanah and Azimahtol, 2008). Aktivitas zat aktif kuasinoid ekstrak akar pasak bumi sebagai antikanker diduga melalui mekanisme pemacuan apoptosis atau penghambatan proliferasi sel kanker dengan melibatkan kerja enzim-enzim antioksidan dan respon imun seluler (Tee and Hwariah,2006). Dan aktivitas zat aktif kuasinoid ekstrak akar pasak bumi sebagai imunomodulator dengan meningkatkan sekresi IL-12 secara *in vitro* (Nurani *et al*, 2010) serta ekstrak akar pasak bumi tidak toksik (LD50=7498,94 mg/kg BB). Mengalami peningkatan berat badan tikus putih terjadi pada dosis, 25, 75 dan 225 mg/ml ([Rumaisa](#), 2011).

Penelitian ini bertujuan untuk melihat pengaruh pemberian kombinasi fraksi etil asetat akar pasak bumi dan Doxorubicin pada tikus putih yang telah diinduksi DMBA yang dilihat dari pengamatan berat badan dan palpasi (pertumbuhan tumor).

Metode Penelitian

Bahan dan Alat

Bahan uji yang digunakan adalah akar pasak bumi pasak bumi *Eurycoma longifolia* Jack yang diperoleh dari daerah Kalimantan dan bahan yang digunakan untuk fraksinasi adalah kloroform, etanol 70%, dan akuades.

Bahan uji antikarsinogenesis adalah ekstrak etanol akar pasak bumi, aquadest, 7,12-dimetilbenz(α)antrasen (DMBA), corn oil sebagai pelarut DMBA, CMC Na 0,5%, Doxorubicin

Hewan uji yang digunakan adalah tikus betina Spague Dawley umur 1 bulan dengan berat yang hamper sama dan dalam kondisi sehat yang diperoleh dari UGM.

Alat yang digunakan untuk membuat ekstrak etanol akar pasak bumi adalah panifusa, alat-alat gelas, corong Buncher, penangas air, timbangan analitik, thermometer.

Alat yang digunakan untuk uji karsinogenesis adalah spuit injeksi, jarum oral untuk tikus, seperangkat alat bedah (pinset, scalpel, blade, gunting), neraca elektrik (Shimadzu, type LS-6DT).

Jalan Penelitian

Penelitian ini dibagi menjadi 2 tahap yaitu pembuatan ekstrak etanol akar pasak bumi (*E.longifolia* Jack) dan uji karsinogenesis.

3. Pembuatan fraksi etil asetat dari akar pasak bumi bumi (*E.longifolia* Jack)

d. Identifikasi tanaman

Identifikasi tanaman pasak bumi (*E.longifolia* Jack) dilakukan di Laboratorium Biologi Fakultas Farmasi Universitas Ahmad Dahlan Yogyakarta.

e. Pembuatan serbuk simplisia

Bahan yang telah di peroleh, dipilih yang tidak rusak. Akar dicuci dengan air mengalir, lalu dikeringkan di bawah sinar matahari tidak langsung dengan ditutup kain hitam. Akar yang telah kering disortasi kering kemudian dihaluskan dengan cara di blender sampai didapat serbuk yang halus.

f. Pembuatan fraksi etil asetat akar pasak bumi

Pembuatan fraksi etil asetat akar pasak bumi ini dilakukan di Laboratorium Obat Tradisional UAD. Serbuk kering *E.longifolia* 100 gram kemudian diekstraksi secara terpisah dengan pelarut kloroform, etanol 70%, dan akuades. Volume pelarut yang digunakan masing-masing sebanyak 1000 mL menggunakan metode maserasi.

Setiap hari dilakukan pengadukan selama tiga jam. Maserasi dilakukan selama tiga hari kemudian disaring sehingga didapat maserat. Maserat yang diperoleh selanjutnya disaring dengan corong *Buchner* dan filtrat diuapkan menggunakan *rotary evaporator*.

4. Uji antikarsinogenesis

e. Persiapan hewan uji

Tikus dipelihara dalam ruangan berventilasi cukup, makanan dalam bentuk pellet dan minuman air secukupnya, hewan diadaptasikan dalam kandang selama 1 minggu sebelum perlakuan

f. Pembuatan larutan karsinogen (DMBA dalam corn oil)

7,12-Dimetilbenz(α) antrasen (DMBA) sesuai dengan dosis dilarutkan dalam corn oil sehingga jika larutan diberikan pada hewan uji secara peroral tidak melebihi volume maksimal yang diperolehkan. Larutan DMBA dalam corn oil selalu dibuat baru, sebelum pemberian terhadap hewan uji.

g. Pembuatan larutan uji (ekstrak etanol akar pasak bumi dalam CMC Na 0,5%).

Ekstrak etanol akar pasak bumi sesuai dengan dosis disuspensikan dalam larutan CMC Na 0,5% sehingga jika larutan ini diberikan kepada hewan uji secara peroral tidak melebihi volume maksimal yang diperoleh. Larutan fraksi etil asetat akar pasak bumi dalam CMC Na 0,5% selalu dibuat baru sebelum pemberian terhadap hewan uji.

- h. Induksi karsinogenesis dengan DMBA dan perlakuan doxorubicin serta fraksi etil asetat akar pasak bumi Tikus betina Sprague Dawley berumur 1 bulan dibagi menjadi 8 kelompok masing-masing kelompok terdiri dari 7 ekor tikus putih betina *Sprague dawley*. Kelompok 1 (Baseline) hanya diberi pakan dan minum, kelompok 2 diberikan fraksi etil asetat akar pasak bumi dosis 100 mg/kgBB, kelompok 3 (kontrol

positif) diberikan doxorubicin dosis 1,17 mg/kgBB 1 kali seminggu selama 5 minggu, kelompok 4 diberikan DMBA dosis 20 mg/kgBB 2 kali seminggu selama 5 minggu, kelompok 5 diberikan DMBA 20 mg/kgBB+doxorubicin 1,17 mg/kgBB, kelompok 6 diberikan DMBA 20 mg/kgBB+fraksi etil asetat akar pasak bumi 100 mg/kgBB, kelompok 7 diberikan DMBA 20 mg/kgBB+Doxorubicin 1,17 mg/kgBB+fraksi etil asetat akar pasak bumi 100 mg/kgBB, kelompok 8 Doxorubicin 1,17 mg/kgBB+fraksi etil asetat akar pasak bumi 100 mg/kgBB pengamatan kejadian tumor dengan dilakukan palpasi pada minggu ke-6 perlakuan.

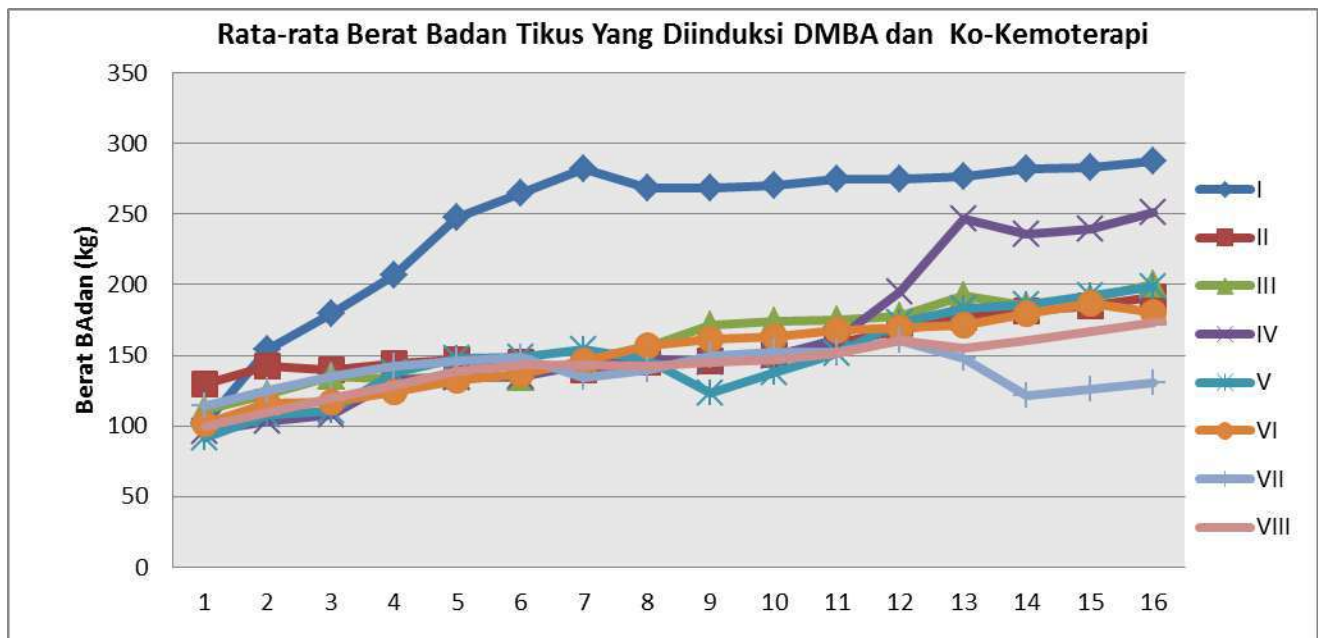
Tabel 1. Waktu pemberian DMBA dan perlakuan dengan Doxorubicin serta Fraksi Etil Asetat Akar Pasak bumi

Minggu	Fraksi Perlakuan	Kontrol Doxorubicin	Kontrol DMBA	Baseline
1-5			2 x 1 seminggu DMBA dalam <i>corn oil</i> secara oral	Pakan+aquadest
6-10	Setiap hari diberi fraksi etil asetat akar pasak bumi	Doxorubicin 1x 1 seminggu secara intraperitoneal		Pakan+aquadest

Hasil dan Pembahasan

Pengukuran terhadap berat badan hewan uji yang dilakukan setiap seminggu sekali. Hasil Pengukuran terhadap berat

badan hewan uji yang dilakukan menunjukkan kenaikan rata-rata berat badan pada seluruh kelompok perlakuan. Data selengkapnya dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Rata-Rata Berat Badan Tikus Yang Diinduksi DMBA dan Ko-Kemoterapi

Berdasarkan hasil pengamatan terhadap data berat badan hewan uji, masing-masing kelompok tidak mengalami penurunan setelah induksi DMBA sampai minggu ke-5. Pada beberapa penelitian lain umumnya rata-rata berat badan kelompok perlakuan lebih rendah dari kelompok

kontrol . Sedangkan pada penelitian yang telah dilakukan terjadi penurunan berat-badan sekitar minggu ke-9 paa kelompok V (DMBA+Doxorubicin) dan selanjutnya terjadi kenaikan yang tidak signifikan. Hal ini disebabkan oleh adanya efek samping

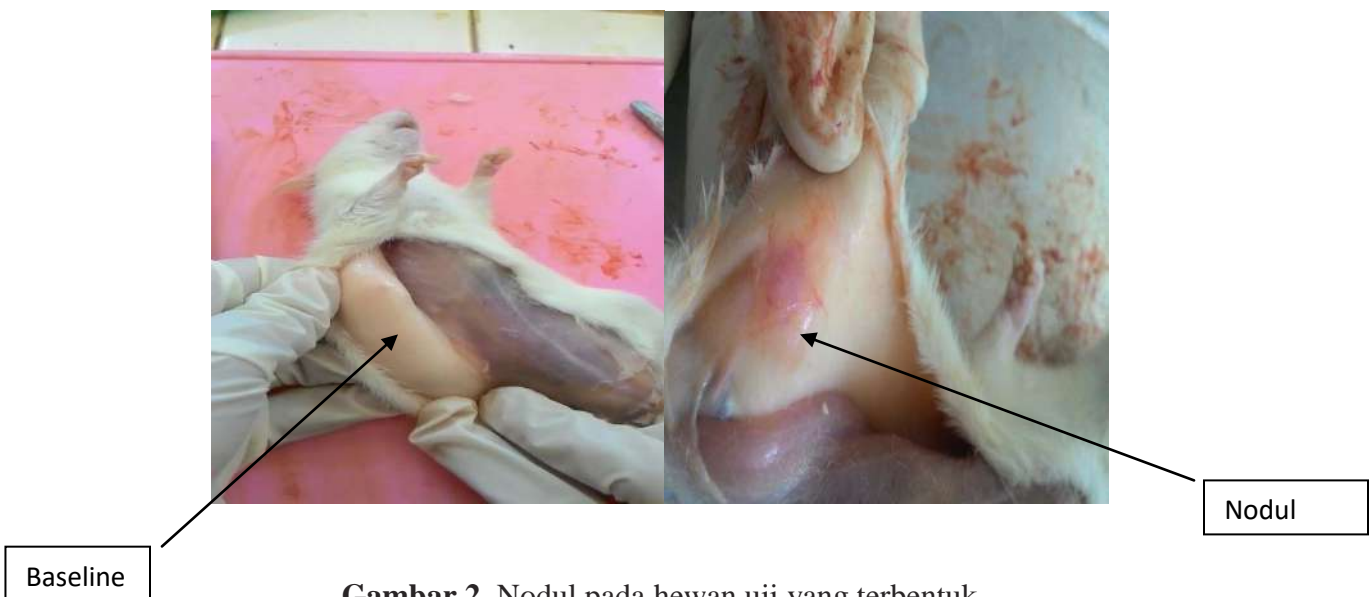
dari doxorubicin yang dapat menurunkan berat badan.

Pengamatan kejadian tumor dan palpasi yang dilakukan selama penelitian diperoleh data bahwa ditemukan adanya benjolan yang dapat teraba atau pertumbuhan tumor pada permukaan tubuh hewan uji dari kelompok hanya yang diinduksi DMBA walaupun nodul hanya

teraba pada beberapa tikus saja. Sedangkan dari hasil palpasi terhadap organ mammae setelah dilakukannya pembedahan terhadap hewan uji pada minggu ke 16 menunjukkan adanya nodul atau benjolan didaerah sekitar mammae pada beberapa tikus. Data pengamatan dapat dilihat pada Tabel 3 dan nodul yang terbentuk dapat dilihat pada Gambar 2.

Tabel 3. Jumlah Nodul Pada Setiap Kelompok

Kelompok	Jumlah Nodul Yang Terbentuk
I (Baseline)	0
II (Fraksi Etil Asetat Akar PASak Bumin)	0
III (Doxorubicin)	0
IV (DMBA)	1
V (DMBA+Doxorubicin)	3
VI (DMBA+ Fraksi Etil Asetat Akar Pasak Bumi)	1
VII (DMBA+ Fraksi Etil Asetat Akar Pasak Bumi +Doxorubicin)	1
VIII (Doxorubicin+ Fraksi Etil Asetat Akar Pasak Bumi)	0



Gambar 2. Nodul pada hewan uji yang terbentuk

Dari pengamatan jumlah kematian selama masa penelitian, pada kelompok VII (DMBA+Doxorubicin+ekstrak) memperlihatkan angka kematian yang paling besar dibandingkan dengan kelompok lainnya dan kontrol. Kombiansi doxorubicin dan fraksi etil asetat akar pasak bumi

diharapkan memiliki efek sinergisme, namun pada penelitian ini tidak terjadi hal tersebut dikarenakan tidak adanya indeks kombinasi sehingga menyebabkan munculnya ketoksikan pada hewan uji. Jumlah kematian hewan uji yang terjadi dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Jumlah Tikus Yang Mati Pada Masing-masing kelompok

Group	Mice Generated amount Nodules
I (Baseline)	0
II (Fraksi Etil Asetat Akar PAsak Bumi)	0
III (Doxorubicin)	0
IV (DMBA)	0
V (DMBA+Doxorubicin)	0
VI (DMBA+ Fraksi Etil Asetat Akar Pasak Bumi)	2
VII (DMBA+ Fraksi Etil Asetat Akar Pasak Bumi +Doxorubicin)	6
VIII (Doxorubicin+ Fraksi Etil Asetat Akar Pasak Bumi)	2

Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan bahwa pemberian kombinasi fraksi etil asetat akar pasak bumi dan Doxorubicin dapat meningkatkan berat badan hewan uji serta pemberian kombinasi fraksi etil asetat dan Doxorubicin menyebabkan tingginya tingkat kematian hewan uji yang disebabkan karena ketoksikan dari keduanya.

Daftar pustaka

- Gao J, Lauer FT, Dunaway S, Burchiel SW., 2005. Cytochrome P450 1B1 is required for 7,12- dimethylbenz(a)-anthracene (DMBA) induced spleen cell immunotoxicity. *Toxicol Sci.* 86(1):68-74
- Hodgson E.,2001. In vitro human phase I metabolism of xenobiotics I : pesticides and related chemicals used in agriculture and public health, September 2001., *J Biochem Mol Toxicol.*, 15 (6), 296-299
- Kuo, P.-C., L.-S. Shi, A. G. Damu, et al., 2003, Cytotoxic and antimalarial Î²-carboline alkaloids from the roots of

- Eurycoma longifolia, *Journal of natural products*, **66**(10): 1324-1327.
- Melendez-colon, V.J., Luch, A., Seidel, ., Baird, W.M., 2000. Formation of stable DNA adducts and apurinic sites upon metabolic activation of bay and fjord region polycyclic aromatic hydrocarbons in human cell cultures, *Chem Res Toxicol.*, **13** (1), 10-17
- Melendez-colon, V.J., Luch, A., SEIDEL, a., Baird, W.M., 1999. Cancer initiation by polycyclic aromatic hydrocarbons results from formation of stable DNA adducts rather than apurinic sites, *carcinogenesis*. **20** (10), 1885-1891.
- Nurkhasanah Mahfudh1 and Azimahtol Hawariah Lope Pihie., 2008. Eurycomanone Induces Apoptosis through the Up-Regulation of p53 in Human Cervical Carcinoma Cells, *Journal of Cancer Molecules* **4**(4): 109-115.
- Nurani, L.H., Utami, D., Salamah, N., 2011, The cytotoxic effect of isolate of Eurycomanone of Pasak Bumi (Eurycoma longifolia Jack) Roots to T47D cell lines, *Proceeding, International Joint Symposium Faculty of Medicines Universitas Gadjah Mada.*
- [Rumaisa Dhifa Mawaddah.](#), 2011. Uji toksisitas akut ekstrak akar pasak bumi (eurycoma longifolia. Jack) pada tikus putih (rattus norvegicus).
- Siswandono, Soekardjo, B., 2000, *Kimia Medisinal*, Edisi 2, Airlangga University, Surabaya
- Tada H, Yasuda F, Otani K, Doteuchi M, Ishihara Y, Shiro M, 1991, New antiulcer quassinoids from Eurycoma longifolia. *Eurycoma Journal Medical Chemistry*: **26**, 345-349
- Tee, T.T. and Hawariah L.P.A. 2005. *Induction of Apoptosis by Eurycoma longifolia Jack Extracts*. *Anticancer Research*. **25**: 2205- 2214.
- Tjiandarbumi, D., and Mangunkusumo, R., 2001, *Cancer In Indonesia Present and Future*, Departements of Sugery and Pathologi, Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, Jakarta, Hal 1-21.

EFEK PEMBERIAN EKSTRAK ETANOL AKAR PASAK BUMI YANG DIINDUKSI DMBA (7,12-dimetilbenz (a) antrasen) DENGAN OBAT KEMOTERAPI DOXORUBICIN

TERHADAP PEMERIKSAAN HEMATOLOGI

Laela Hayu Nurani¹, Achmad Mursyidi¹, Sita Rina²

²Fakultas Farmasi Universitas Ahmad Dahlan

³Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Gadjah Mada

laelafarmasi@gmail.com

INTISARI

Salah satu zat kimia yang poten menyebabkan kanker adalah golongan *Polycyclic Aromatic Hydrocarbon* (PAH) yaitu DMBA (7,12-dimetilbenz (a) antrasen). Untuk pengobatan kanker dengan agen sitotoksik (kemoterapi) telah banyak digunakan namun sampai saat ini banyak terdapat efek samping. Doxorubicin adalah agen kemoterapi yang umum dipakai untuk terapi kanker, namun efektivitas penggunaan doxorubicin ini menjadi terbatas karena munculnya masalah efek samping pada jaringan normal tubuh. Untuk menurunkan efek samping doxorubicin, diperlukan agen ko-kemoterapi salah satunya adalah *Eurycoma longifolia* Jack atau lebih dikenal dengan akar pasak bumi. Pada penderita kanker sering ditemukan disfungsi darah sehingga tes hematologi (tes darah rutin) diperlukan untuk parameter pengobatan kanker. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kadar darah rutin pada tikus galur SD yang diinduksi oleh DMBA, doxorubicin, dan ekstrak akar pasak bumi.

Desain penelitian ini adalah eksperimental dengan 8 kelompok perlakuan. Kelompok 1 normal, kelompok 2 ekstrak akar pasak bumi dosis 100 mg/kg BB, kelompok 3 doxorubicin, kelompok 4 DMBA, kelompok 5 DMBA+doxorubicin, kelompok 6 DMBA+ekstrak, kelompok 7 DMBA+doxorubicin+ekstrak akar pasak bumi, kelompok 8 doxorubicin+ekstrak akar pasak bumi (*Maaf Prof Abdul, apakah perlu ditambah waktu pemberiannya kah? / timeline nya? Kapan diberikan dst?*)

Hasil penelitian menunjukkan bahwa induksi DMBA, doxorubicin dan ekstrak akar pasak bumi dapat mempengaruhi profil hematologi pada hewan uji. Kadar hemoglobin kelompok normal $15,60 \pm 0,5$, sedangkan kelompok DMBA $14,70 \pm 1,29$, kelompok DMBA + Doxorubicin $13,6 \pm 2,55$, kelompok DMBA + Ekstrak $15,33 \pm 1,19$, kelompok DMBA + Ekstrak + Doxorubicin $13,33 \pm 0,38$. Secara umum kadar hemoglobin mengalami penurunan setelah dipapar DMBA, namun kelompok DMBA + Ekstrak mengalami penurunan hemoglobin yang tidak signifikan dibandingkan dengan kelompok lainnya tidak berbeda bermakna ($p > 0,05$). Pemberian DMBA juga mengakibatkan adanya penurunan nilai leukosit dengan nilai leukosit pada kelompok DMBA $8715,00 \pm 3902,35$ dibandingkan dengan leukosit kelompok normal $10162,50 \pm 3642,54$, tetapi tidak berbeda bermakna ($p > 0,05$). Pada perlakuan ekstrak+doxo kadar eritrositnya $3,985 \pm 0,76$, terjadi penurunan eritrosit signifikan yang kemungkinan disebabkan oleh pengaruh efek samping dari doxorubicin yang dapat menurunkan produksi interferon- γ (IFN- γ), sehingga dapat menghambat eritropoesis dan pembentukan limfosit, monosit dan netrofil. DMBA juga berpengaruh terhadap jumlah limfosit, monosit dan netrofil dalam tubuh. Adanya induksi DMBA diduga dapat menurunkan jumlah limfosit, monosit dan neutrofil.

Kata kunci: Kanker, DMBA, Doxorubicin, Akar pasak bumi, Hematologi

PENDAHULUAN

Kanker merupakan salah satu penyakit yang menyebabkan kematian tertinggi di seluruh dunia. Pada tahun 2012, sekitar 8,2 juta kematian disebabkan oleh kanker. Diperkirakan kematian kanker akan meningkat dari 14 juta menjadi 22 juta dalam rentang waktu dua decade berikutnya (Anonim, 2015).

Kanker dapat terjadi karena beberapa faktor, diantaranya yaitu faktor genetic, faktor perilaku atau gaya hidup, dan faktor karsinogen seperti zat kimia, radiasi, virus, hormon, dan iritasi kronis (Anonim, 2015). Salah satu zat kimia yang dapat poten menyebabkan kanker yaitu golongan *polycyclic aromatic hydrocarbon* (PAH). Karsinogen yang paling poten dari golongan ini yaitu DMBA (7,12-dimetilbenz (a) antrasen) (Adventus, Tiny., 2013). Senyawa ini dalam metabolisme hewan pengerat akan bereaksi dengan sitokrom p-450 untuk membentuk ikatan kovalen dengan DNA pada sel yang aktif membelah sehingga menyebabkan *DNA adduct* (Anonim., 2007).

Pengobatan kanker payudara dengan agen sitotoksik (kemoterapi) telah cukup banyak namun sampai saat ini efek samping yang ditimbulkan sangat merugikan. *Doxorubicin* (*Dox*) merupakan salah satu agen kemoterapi yang banyak digunakan dalam terapi kanker (Riris, 2009). *Doxorubicin* adalah agen kemoterapi yang umum dipakai untuk terapi kanker payudara, namun efektivitas penggunaan agen kemoterapi ini menjadi terbatas karena munculnya masalah resistensi sel kanker dan adanya efek toksik pada jaringan normal tubuh (Fimognari *et al.*, 2006).

Untuk meningkatkan efikasi *doxorubicin*, diperlukan agen ko-kemoterapi salah satunya adalah *Eurycoma Longifolia Jack* atau lebih dikenal dengan akar pasak bumi. Dengan demikian dosis *doxorubicin* dapat diturunkan (Ang *et al.*, 2002). Kandungan akar pasak bumi yang memiliki efek antikanker dengan mekanisme aksi melalui aktivitas antiproliferatif terhadap sel HeLa dan apoptosis adalah *eurycomanon* (Mahfud and azimahtol, 2008).

Disfungsi sel darah sering ditemukan pada pasien kanker contohnya adalah anemia (Dicato *et al.*, 2010), thrombocytopenia (Kuter, 2015) sehingga tes hematologi (tes darah rutin)

merupakan salah satu parameter yang penting dalam pengobatan kanker.

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui kadar darah rutin pada tikus galur SD yang diinduksi oleh DMBA, *Doxorubicin*, ekstrak etanol akar pasak bumi.

METODE PENELITIAN

Bahan uji karsinogenesis

Akar tanaman pasak bumi (*Eurycoma longifolia Jack*), yang diperoleh dari daerah Kalimantan Selatan (Martapura). Kemudian dilakukan penyerbukan, dan diekstraksi dengan etanol 70% hingga diperoleh ekstrak etanolik akar pasak bumi. Untuk pembuatan model kanker payudara digunakan DMBA (7,12-dimetilbenz(a)antrasen).

Subyek uji

Hewan uji yang digunakan yaitu tikus betina galur Sparague Dawley umur 1 bulan 2 minggu dengan berat badan 60-70 g, diperoleh dari Fakultas Farmasi UGM Yogyakarta, kemudian dipelihara di Laboratorium Hewan Fakultas Farmasi Universitas Ahmad Dahlan, Yogyakarta.

Induksi karsinogenesis menggunakan DMBA, doxorubicin dan pemberian ekstrak etanol akar pasak bumi (*Eurycoma Longifolia Jack*)

56 tikus betina (Female) umur 44 hari dibagi menjadi 8 kelompok secara random. Kelompok 1 digunakan sebagai baseline (kontrol), diberi makanan kontrol AD 2. Kelompok II (perlakuan ekstrak saja secara peroral) dengan dosis 100 mg/KgBB, kelompok III (Perlakuan *Doxorubicin* 1,12 mg/KgBB) secara i.p, 1 kali seminggu selama 5 minggu, kelompok IV (Perlakuan DMBA dengan dosis 20 mg/KgBB) secara p.o 2 kali seminggu selama 5 minggu (meiyanto *et al.*, 2007), kelompok 5 (Perlakuan kontrol positif, diinduksi DMBA dan *Doxorubicin*), kelompok 6 (Perlakuan induksi DMBA dan ekstrak), kelompok 7 (perlakuan induksi DMBA, *Doxorubicin* dan Ekstrak), dan kelompok 8 (perlakuan *Doxorubicin* dan ekstrak etanolik akar pasak bumi). Tikus ditimbang 1 kali seminggu yang dimulai dari pemberian pertama DMBA. Untuk mengamati

perkembangan tumor hingga minggu ke- 16 dilakukan palpasi payudara pada hewan uji.

Pemeriksaan Hematologi

Pemeriksaan hematologi darah rutin dilakukan di laboratorium Parahita Diagnostic Center Yogyakarta. Meliputi hemoglobin (HGB), eritrosit (RBC), hematokrit (HCT), leukosit (WBC), MCV, MCH, MCHC, RDW, trombosit (PLT), limfosit, monosit, neutrofil, eosinophil dan basofil.

Analisis Statistik

Profil hematologi dianalisis secara statistik dengan metode Anova menggunakan SPSS versi 16 for Windows, perbedaan dianggap signifikan pada $p < 0,05$.

Hasil dan Pembahasan

Pemberian DMBA didalam tubuh akan mengakibatkan adanya metabolisme secara oksidatif hormon estrogen dan menghasilkan metabolit kimia berupa ROS (Reactive oxygen species) yang menimbulkan kerusakan DNA secara oksidatif (Crooke et al., 2006).

DMBA yang diberikan akan menyerang hemoglobin dan membentuk hemoglobin adduct (Ogawa et al., 2006). Sehingga akan menurunkan kadar hemoglobin dalam darah dan menyebabkan terjadinya anemia. Anemia ditandai dengan menurunnya kadar MCV dan MCH (akrom et al., 2013). Hemoglobin adduct merupakan biomarker adanya senyawa kimia yang masuk ke dalam sel.

Dari hasil penelitian diperoleh kadar hemoglobin tikus spargue dawley pada kelompok normal $15,60 \pm 0,5$, sedangkan kelompok DMBA $14,70 \pm 1,29$, kelompok DMBA + Doxorubicin $13,6 \pm 2,55$, kelompok DMBA + Ekstrak $15,33 \pm 1,19$, kelompok DMBA + Estrak + Doxorubicin $13,33 \pm 0,38$, Secara umum kadar hemoglobin mengalami penurunan setelah dipapar DMBA, namun kelompok DMBA + Ekstrak mengalami penurunan hemoglobin yang signifikan dibandingkan dengan kelompok lainnya tidak berbeda bermakna ($p > 0,05$).

Hal ini disebabkan karena DMBA mampu menyebabkan reaksi oksidasi pada hemoglobin. Ekstrak etanol akar pasak bumi mampu menghambat terjadinya reaksi oksidasi

dengan mekanisme anti oksidannya (Rifkind et al., 2015)

Pada penelitian ini pemberian DMBA mengakibatkan adanya penurunan nilai leukosit dengan nilai leukosit pada kelompok DMBA $8715,00 \pm 3902,35$ dibandingkan dengan leukosit kelompok normal $10162,50 \pm 3642,54$, tetapi tidak berbeda bermakna ($p > 0,05$).

Hal ini dikarenakan target selektif DMBA pada sel darah putih (leukosit) lebih besar daripada pada sel darah merah maupun trombosit (N'jai et al., 2010). Penurunan leukosit ini disebabkan oleh peningkatan IL-12, IL-12 adalah sejenis sitokina yang biasanya disekresi oleh DC, MAC dan sel B limfoblastoid (NC-37), sebagai respon stimulasi antigen. IL-12 disebut juga sebagai faktor stimulan sel T, karena berperan dalam diferensiasi sel T CD4 menjadi sel TH0 yang kemudian berkembang menjadi sel TH1. Sel T efektor yang memproduksi IL-12 disebut sel T CD30. IL-12 juga stimulant bagi sitokina IFN- γ dan TNF- α . Stimulasi IFN- γ dilakukan dengan mengurangi efek sitokina IL-4 yang menjadi regulator IFN- γ . Lebih lanjut, produksi IFN- γ akan meningkatkan kadar IP-10 yang bersifat anti-angiogenik (menghambat pertumbuhan pembuluh darah baru) sehingga menghambat eritropoesis dan pembentukan limfosit, monosit dan netrofil. Selain itu, metabolit DMBA menghambat proliferasi atau diferensiasi dari hematopoietic stem cells (HSC). Penghambatan daya proliferasi sel-sel sumsum tulang belakang menyebabkan penurunan jumlah sel darah terutama leukosit yang memegang peranan penting dalam sistem pertahanan tubuh. Berkurangnya jumlah leukosit mengakibatkan rentan terhadap infeksi karena penekanan sistem imun (N'jai et al., 2010).

Selain nilai leukosit, dilakukan pengamatan terhadap nilai eritrosit pada semua kelompok perlakuan, di mana menunjukkan hasil tidak terdapat perbedaan yang signifikan antar kelompok. Namun, pada perlakuan ekstrak+doxo kadar eritrositnya $3,985 \pm 0,76$, terjadi penurunan eritrosit signifikan yang kemungkinan disebabkan oleh pengaruh efek samping dari doxorubicin yang dapat menurunkan produksi interferon- γ (IFN- γ), sehingga dapat menghambat eritropoesis dan pembentukan limfosit, monosit dan netrofil (Zhang et al., 2005).

Tabel 1. Profil hematologi darah tikus galur SD yang diinduksi DMBA dan diberi obat Doxorubicin dengan kombinasi ekstrak etanol akar pasak bumi (*Eurycoma Longifolia Jack*)

Tes	Hemoglobin (gr/dL)	Eritrosit (Juta/uL)	Hematokrit (%)	Leukosit (/uL)	MCV (fl)	MCH (pg)	MCHC (g/dL)
Normal	15,60±0,5	8,03±0,74	42,13±4,15	10162,50±3642,54	52,45±0,9	19,53±1,42	37,23±3,2
Ekstrak	14,87±0,35	8,24±0,56	44,57±2,44	8796,67±1216,89	54,27±5,48	18,10±1,15	33,40±1,37
Doxorubicin	14,65±0,07	7,59±0,48	39,4±0,57	7045±1011,16	52±2,55	19,3±1,13	37,15±0,35
DMBA	14,70±1,29	7,40±1,09	41,88±4,11	8715,00±3902,35	57,27±6,91	20,05±2,97	34,95±1,36
DMBA+Doxo	13,6±2,55	6,395±1,77	40,45±8,84	7120±254,56	63,75±3,89	21,55±2,05	33,75±1,06
DMBA+Eks	15,33±1,19	7,80±0,73	42,60±1,37	7962,50±1219,93	54,83±3,51	19,70±0,66	35,95±1,67
DMBA+Doxo+Eks	13,33±0,38	6,77±0,49	39,00±2,34	7836,67±793,87	57,67±1,55	19,80±1,42	34,23±1,7
Doxo+Eks	7,75±1,06	3,985±0,76	22,45±3,89	3595±1152,58	55,7±0,14	19,3±0,71	34,6±1,27

Tabel 2. Profil hematologi darah tikus galur SD yang diinduksi DMBA dan diberi obat Doxorubicin dengan kombinasi ekstrak etanol akar pasak bumi (*Eurycoma Longifolia Jack*)

Tes	RDW (%)	Trombosit (/UI)	Limfosit (%)	Monosit (%)	Neutrofil (%)	Eosinofil (%)	Basofil (%)
Normal	16,75±2,31	1159500,00±425555,7 2	60,50±7,59	6,75±0,96	31,50±7,77	1,67±0,58	0
Ekstrak	17,83±1,04	846000,00±345813,53	63,33±2,08	3,67±0,58	17,33±13,4 3	6,33±3,79	0
Doxorubicin	17,7±0,28	1215000±427092,5	68±0	4±0	26±0	2±0	0
DMBA	16,48±2,42	1145833,33±269747,6	63,20±7,66	6,60±4,83	28,60±5,64	1,60±0,55	0
DMBA+Doxo	23,3±5,80	1121500±204353,86	60±0	1±0	36±0	3±0	0
DMBA+Eks	16,45±2,42	667750,00±175049,28	64,00±5,66	9,00±0	22,00±4,24	5,00±1,41	0
DMBA+Doxo+Eks	15,37±2,89	517333,33±516946,16	49,50±14,8 5	28,50±6,3 6	21,00±9,9	2,00±0	0
Doxo+Eks	13,85±1,48	403000±125865,01	60±1,41	18,5±4,95	17±8,49	4,5±4,95	0

DMBA juga berpengaruh terhadap jumlah limfosit, monosit dan netrofil dalam tubuh. Adanya induksi DMBA diduga dapat menurunkan jumlah limfosit, monosit dan neutrofil. Dari hasil penelitian diketahui bahwa rata-rata jumlah monosit semua kelompok pada penelitian ini lebih tinggi dari nilai normalnya (Giknis, 2008). Induksi DMBA menurunkan jumlah monosit tikus SD, hasil penelitian membuktikan bahwa rata-rata jumlah monosit kelompok DMBA lebih rendah dari jumlah monosit kelompok normal, pemberian ekstrak etanol akar pasak bumi meningkatkan jumlah monosit, tetapi tidak berbeda bermakna ($p>0,05$).

Hasil penelitian menunjukkan bahwa jumlah eosinofil kelompok uji cenderung lebih tinggi dari nilai normal (Giknis., 2008). Jumlah eosinofil kelompok DMBA lebih rendah dibandingkan dengan kelompok normal, tetapi tidak berbeda bermakna ($P >0,05$).

KESIMPULAN

Induksi DMBA (7,12-dimetilbenz (a) antrasen) dapat mempengaruhi profil hematologi tikus galur SD terutama terhadap jumlah hemoglobin (Hb), leukosit, eritrosit, monosit dan eosinofil.

DAFTAR PUSTAKA

- Adventus, B., Tiny, E.H. 2013. Ekstrak Metanol Daun Kelor Menurunkan Ekspresi BCL-2, TRAIL-R1, dan Kadar Caspase-3 Jaringan Kolon Tikus yang Diinduksi DMBA. *Jurnal Kedokteran Brawijaya*, Vol.27, No.4.
- Akrom, mustofa, marstyan, mubarika, 2013. Efek kemopreventif dan anti hemtotoksik minyak biji jintan hitam (MBJH) , *jogja media farmasi*.
- Ang, H. H., Hitot Suyanagi, Y., Fukaya, H. & Takeya, K. 2002. Quassinoids from *Eurycoma Longifolia Longifolia*. *Phytochemistry* 59:833-837
- Anonim, 2007. DNA Damage and Repair diakses melalui [www. Sigmaaldrich. com](http://www.Sigmaaldrich.com)
- Anonim. 2015. Stop kanker. Jakarta : Kementrian Kesehatan RI
- Dicato M, Plawny L and Diederrich M, 2010, Anemia in cancer, *annals of oncology*
- 21Kuter David J, 2015, managing thrombocytopenia associated with cancer chemotherapy, review article, *oncology journal*.
- Fimognari, C., Nusse, M. N., Lenzi, M., Sciuscio, D., Cantelli-Forty, G., Hrelia, P., 2006. Sulforaphane Increases the Efficacy of doxorubicin in Mouse Fibroblasts Characterized by P53 mutations, *mutations research*, 601, 92-101.
- Giknis, M.L.A., and Clifford, C.B., 2008. Clinical laboratory parameters for Crl:WI (Han) Sprague Dawley Rat, Charles River Laboratory, Montreal, Quebec, Canada
- Kuter , DJ. 2015. Managing thrombocytopenia associated with cancer chemotherapy
- Mahfudh Nurkhasanah and Azimahtol Hawariah Lope Pihie, 2008 Eurycomanone Induces Apoptosis through the Up Regulation of p53 in Human Cervical Carcinoma Cells, *J.Cancer Mol.* 4(4): 109-115
- Meiyanto, E., Susilowati, S., Tasminatun, S.,Murwanti, R., and Sugiyanto.2007. Efek Kemopreventif ekstrak etanolik Gynura procumbens (Lour), Merr pada karsinogenesis kanker payudara . *MFI*
- Jenie, Riris ighstigfari. 2007. Efek Ko-Kemoterapi ekstrak etanolik daun sambung nyawa (Gynura procumbens (Lour.) Merr) dan doxorubicin pada sel kanker payudara. *MFI* 81-87.
- N'jai, A.U., M. Larsen, L.Shia, C.R. Jefcoate and C.J. Czuprynski, 2010. Bone marrow lymphoid and myeloid progenitor cells are suppressed in 7,12 dimethylbenz(a)anthracene (DMBA) treated mice, *Toxicology*, pp: 505341-505349
- Ogawa M, Oyamate, Isse T, Yamaquchi T, Murakami T, Endo Y, Kawamoto T. 2006, Hemoglobin adducts as a marker of exposure to chemical substances, especially PRTR class I designated chemical substances, *J.Occup Health* ; 48(5):314-28.
- Rifkind, Joseph M, Joy G, Mohanty, Enika Nagababu. 2015. The pathophysiology of extracellular hemoglobin associated with enhanced oxidative reactions *Frontiers in physiology*.
- Zhang, Xiao-Yu, Li, Wen-Guang, Wu, Yong-Jie, and Gao, Ming-Tang, 2005, Amelioration of Doxorubicin-Induced Myocardial Oxidative Stress and Immunosuppression by Grape Seed Proanthocyanidins in Tumourbearing Mice, *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 57(8): 10431

--- KERTAS PEMBATA ---

BERITA ACARA
SERAH TERIMA LAPORAN PENGGUNAAN KEUANGAN 100%
HIBAH DESENTRALISASI PENELITIAN
TAHUN 2015

Pada hari ini **Kamis** tanggal **Dua puluh lima** bulan **Nopember** tahun **Dua ribu lima belas** (**25-11-2015**), bertempat bertempat di Kantor Lembaga Penelitian dan Pengembangan Universitas Ahmad Dahlan (LPP UAD), Jalan Gondosuli No. 1 Yogyakarta telah diadakan serah terima Laporan Penggunaan Keuangan 100% Hibah Desentralisasi Penelitian Dikti Tahun Anggaran 2015 sebagai berikut.

1. Nama : **Dr. Widodo, M.Si.**
Jabatan : Kepala Lembaga Penelitian dan Pengembangan (LPP)
Universitas Ahmad Dahlan
Selanjutnya disebut sebagai **PIHAK PERTAMA**

2. Nama : Dr. Laela Hayu Nurani, M.Si., Apt
Jabatan : Dosen/Peneliti
Skim : Contoh: Penelitian Hibah Bersaing (PHB)
Judul Penelitian : POTENSI EFEK ANTIKANKER KOMBINASI FRAKSI ETIL ASETAT AKAR
PASAK BUMI (*Eurycoma longifolia Jack*) DENGAN OBAT KEMOTERAPI
KANKER
Selanjutnya disebut sebagai **PIHAK KEDUA**.

PIHAK KEDUA **telah menyerahkan** Laporan Penggunaan Keuangan 100% Hibah Penelitian Desentralisasi Dikti Tahun Anggaran 2015 dari PIHAK KEDUA, dan PIHAK KEDUA **telah menerima** berkas tersebut sesuai dengan Surat Penugasan Pelaksanaan Penelitian (SP3) Desentralisasi Dikti Tahun Anggaran 2015 Nomor: /SP3/IV/2015 tanggal 1 April 2015sebanyak 7 (tujuh) eksemplar.

Demikian Berita Acara ini dibuat untuk dapat dipergunakan sebagaimana mestinya.

PIHAK PERTAMA
Ketua LPP UAD,

PIHAK KEDUA
Ketua Peneliti,

Dr. Widodo, M.Si.
NIP. 19600221 198709 1 001

Dr. Laela Hayu Nurani, M.Si., Apt
NIY 60990195

REKAPITUKASI PENGGUNAAN DANA PENELITIAN 100%

LAMPIRAN:

- **Kwitansi**
- **Nota**
- **SSP (Pajak PPh)**

Kode>Nama Rumpun Ilmu: 402/Farmakologi dan Farmasi Klinik

LAPORAN AKHIR

PENELITIAN TIM PASCASARJANA



**POTENSI EFEK ANTIKANKER KOMBINASI FRAKSI ETIL ASETAT
AKAR PASAK BUMI (*Eurycoma longifolia* Jack) DENGAN OBAT
KEMOTERAPI KANKER**

Tahun ke-3 dari rencana 3 tahun

TIM PENGUSUL

Dr. Laela Hayu Nurani, M.Si., Apt	NIDN0520097501
Prof. Dr. Abdul Rohman, M.Si., Apt	NIDN0020017705
Drh. Sitarina Widyarini, MP.,Ph.D	NIDN0016096602

UNIVERSITAS AHMAD DAHLAN

November, 2016

HALAMAN PENGESAHAN

Judul : POTENSI EFEK ANTIKANKER KOMBINASI FRAKSI
ETIL ASETAT AKAR PASAK BUMI (*Eurycoma
longifolia* Jack) DENGAN OBAT KEMOTERAPI
KANKER

Peneliti/Pelaksana

Nama Lengkap : Dr. LAELA HAYU NURANI M.Si., Apt.
Perguruan Tinggi : Universitas Ahmad Dahlan
NIDN : 0520097501
Jabatan Fungsional : Lektor
Program Studi : Farmasi
Nomor HP : 08562863116
Alamat surel (e-mail) : laelafarmasi@yahoo.com

Anggota (1)

Nama Lengkap : ABDUL ROHMAN
NIDN : 0020017705
Perguruan Tinggi : Universitas Gadjah Mada

Anggota (2)

Nama Lengkap : SITARINA WIDYARINI M.P
NIDN : 0016096602
Perguruan Tinggi : Universitas Gadjah Mada

Institusi Mitra (jika ada)

Nama Institusi Mitra : -

Alamat : -

Penanggung Jawab : -

Tahun Pelaksanaan : Tahun ke 3 dari rencana 3 tahun

Biaya Tahun Berjalan : Rp 110.000.000,00

Biaya Keseluruhan : Rp 125.000.000,00



Mengetahui,
Direktur Program Pascasarjana

Yogyakarta, 12 - 10 - 2016
Ketua,

(Dr. Achmad Mursyidi, M.Sc., Apt)
NIP/NIK 0008084404

(Dr. LAELA HAYU NURANI M.Si., Apt.)
NIP/NIK 60990195



Menyetujui,
Ketua LPP UAD

(Dr. Widodo, M.P)
NIP/NIK 96002211987091001



UNIVERSITAS AHMAD DAHLAN
PERGURUAN TINGGI MUHAMMADIYAH
FAKULTAS PASCASARJANA – MAGISTER FARMASI
Jl. Prof.Dr. Soepomo, Janturan, Yogyakarta Telp. 0274-370141, Fax. 0274-370141

SURAT PERNYATAAN

TELAH MENYELESAIKAN SELURUH PEKERJAAN
HIBAH TIM PENELITIAN PASCA SARJANA TAHUN 2016

Yang bertandatangan di bawah ini, saya:

Nama : **Dr. Laela Hayu Nurani, M.Si., Apt**
Jabatan : Dosen/Peneliti
Skim : Hibah Tim Penelitian Pasca Sarjana
Judul Penelitian : **POTENSI EFEK ANTIKANKER KOMBINASI FRAKSI ETIL ASETAT AKAR PASAK BUMI (*Eurycoma longifolia Jack*) DENGAN OBAT KEMOTERAPI KANKER**

Dengan ini menyatakan bahwa, saya telah menyelesaikan seluruh pekerjaan penelitian dan telah menyusun Laporan Hasil Penelitian Pasca Sarjana Dikti Tahun Anggaran 2016 dengan judul dan skim sebagaimana tersebut di atas.

Demikian Pernyataan ini saya buat untuk dapat dipergunakan sebagaimana mestinya.

Yogyakarta, 12 Oktober 2016

Ketua Peneliti,

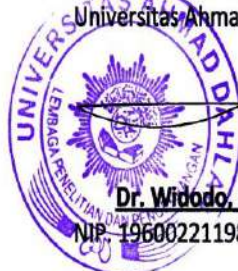
Mengetahui
Direktur,



Prof. Dr. Achmad Mursyidi, M.Sc., Apt
NIY/60090571

Dr. Laela Hayu Nurani, M.Si., Apt
NIY60990195

Mengetahui
Ketua Lembaga Penelitian dan Pengembangan
Universitas Ahmad Dahlan,



Dr. Widodo, M.Si.
NIP. 196002211987091001

BERITA ACARA PENYELESAIAN PEKERJAAN (BAPP)

Nomor: PDD-002/SP3/III/2016

Pada hari ini Rabu, tanggal dua belas bulan Oktober tahun Dua ribu enam belas (12-10-2016), kami yang bertandatangan di bawah ini:

- I. Nama : Dr. Widodo, M.Si.
Jabatan : Kepala Lembaga Penelitian dan Pengembangan Universitas Ahmad Dahlan (LPP UAD).

Selanjutnya disebut **PIHAK PERTAMA**

- II. Nama : Dr. Laela Hayu Nurani, M.Si., Apt
Jabatan : Dosen/Peneliti
Skim : Hibah Tim Penelitian Pasca Sarjana
Judul Penelitian : POTENSI EFEK ANTIKANKER KOMBINASI FRAKSI ETIL ASETAT AKAR.
PASAK BUMI (*Eurycoma longifolia Jack*) DENGAN OBAT KEMOTERAPI
: KANKER

Selanjutnya disebut **PIHAK KEDUA**.

1. Dengan ini **PIHAK KEDUA** menyatakan telah menyelesaikan seluruh pekerjaan yang telah ditugaskan oleh **PIHAK PERTAMA** berupa Penelitian Tim Penelitian Pasca Sarjana Dikti Tahun Anggaran 2016 sesuai dengan Surat Penugasan Pelaksanaan Penelitian (SP3) Pasca Sarjana Dikti Tahun Anggaran 2016 Nomor: PDD-002/SP3/III/2016
2. **PIHAK PERTAMA** menerima hasil pekerjaan yang telah diselesaikan oleh **PIHAK KEDUA** sebagaimana tersebut di atas.



Yogyakarta, 12 Oktober 2016

PIHAK KEDUA,

Dr. Laela Hayu Nurani, M.Si., Apt
NIY60990195

BERITA ACARA

SERAH TERIMA LAPORAN AKHIR

PELAKSANAAN HIBAH TIM PENELITIAN PASCA SARJANA TAHUN ANGGARAN 2016

Pada hari ini **Rabu** tanggal **dua belas** bulan **Oktober** tahun **Dua ribu enam belas**, bertempat di Kantor LPP UAD diadakan serah terima Laporan Akhir Pelaksanaan Hibah Tim Penelitian Pasca Sarjana Dikti Tahun Anggaran 2016 sebagai berikut.

1. Nama : Dr. Widodo, M.Si.
Judul : Kepala Lembaga Penelitian dan Pengembangan (LPP)
Universitas Ahmad Dahlan
Selanjutnya disebut sebagai **PIHAK PERTAMA**.
2. Nama : Dr. Laela Hayu Nurani, M.Si., Apt
Jabatan : Dosen/Peneliti
Skim : Hibah Tim Penelitian Pasca Sarjana
Judul Penelitian : POTENSI EFEK ANTIKANKER KOMBINASI FRAKSI ETIL ASETAT AKAR PASAK BUMI (*Eurycoma longifolia Jack*) DENGAN OBAT KEMOTERAPI KANKER
Selanjutnya disebut sebagai **PIHAK KEDUA**.

PIHAK KEDUA **telah menyerahkan** Laporan Akhir Pelaksanaan Hibah Tim Penelitian Pasca Sarjana Dikti Tahun Anggaran 2016 dari PIHAK KEDUA, dan PIHAK KEDUA **telah menerima** Laporan Akhir Pelaksanaan Tim Penelitian Pasca Sarjana Dikti Tahun Anggaran 2016 dengan skim dan judul sebagaimana tersebut di atas sebanyak 3(tiga) eksemplar.

Demikian, berita acara ini dibuat dengan sebenarnya.

Yogyakarta, 12 Oktober 2016

PIHAK KEDUA
Ketua LPP UAD,



Dr. Widodo, M.Si.
NIP. 19600221 198709 1 001

PIHAK PERTAMA
Ketua Peneliti,



Dr. Laela Hayu Nurani, M.Si., Apt
NIP. 60990195

BERITA ACARA
SERAH TERIMA LAPORAN PENGGUNAAN KEUANGAN 100%
PELAKSANAAN HIBAH TIM PENELITIAN PASCA SARJANA
TAHUN ANGGARAN 2016

Pada hari ini **Rabu** tanggal **dua belas** bulan **Oktober** tahun **Dua ribu enam belas**, (12-10-16) bertempat di Kantor LPP UAD diadakan serah terima Laporan Akhir Penggunaan Keuangan 100% Hibah Tim Penelitian Pasca Sarjana Dikti Tahun Anggaran 2016 sebagai berikut.

1. Nama : Dr. Widodo, M.Si.
Judul : Kepala Lembaga Penelitian dan Pengembangan (LPP)
Universitas Ahmad Dahlan
Selanjutnya disebut sebagai **PIHAK PERTAMA**.

2. Nama : Dr. Laela Hayu Nurani, M.Si., Apt
Jabatan : Dosen/Peneliti
Skim : Hibah Tim Penelitian Pasca Sarjana
Judul : POTENSI EFEK ANTIKANKER KOMBINASI FRAKSI ETIL
Penelitian ASETAT AKAR PASAK BUMI (*Eurycoma longifolia* Jack)
DENGAN OBAT KEMOTERAPI KANKER
Selanjutnya disebut sebagai **PIHAK KEDUA**.

PIHAK KEDUA telah menyerahkan Laporan Penggunaan Keuangan 100% Hibah Tim Penelitian Pasca Sarjana Dikti Tahun Anggaran 2016 kepada PIHAK PERTAMA, dengan skim dan judul sebagaimana tersebut di atas sebanyak 7 (tujuh) eksemplar.

Demikian, berita acara ini dibuat dengan sebenarnya.



Yogyakarta, 12 Oktober 2016

PIHAK KEDUA,

Dr. Laela Hayu Nurani, M.Si., Apt
NIY60990195

RINGKASAN

Masalah atau kesenjangan yang akan diatasi: Insidensi kanker payudara meningkat setiap tahun, dengan angka keterjadian 170-190 kasus baru tiap 100.000 penduduk per tahun. Upaya pengatasan dengan kemoterapi merupakan pilihan utama walaupun terdapat kelemahan resistensi yang ditimbulkan. Terapi dengan obat herbal sering dilakukan namun sulit untuk dapat masuk dalam sistem pengobatan herbal. Atas dasar itu maka perlu kombinasi antara obat herbal dan obat sintesis untuk mengatasi resistensi dan aplikasi penggunaannya.

Drug of choice untuk kanker payudara adalah doxorubicin yang tentunya jugaberefek pada sel normal dan adanya resistensi yang ditimbulkan. Eurycomanon (isolat akar pasak bumi) mempunyai aktivitas menurunkan CD-4 dan CD-8 yang pada akhirnya dapat menurunkan resistensinya. Namun demikian perlu penelitian *in vivo* untuk melihat efek sinergisme dari campuran fraksi yang mengandung eurycomanon terhadap perbaikan efek yang ditimbulkan, penurunan toksisitasnya (genotoksik), serta efek kliniknya terhadap manusia.

Tujuan Jangka panjang: Tujuan umum penelitian ini adalah mendapatkan fitofarmaka *E.longifolia* sebagai agen ko-kemoterapi dengan mekanisme kerja definitif secara molekuler untuk kanker payudara.

Target khusus yang ingin dicapai: Penelitian ini bertujuan, pada **tahun pertama**, mengkaji (1) standardisasi senyawa aktif, (2) efek sinergisme campuran fraksi etil asetat dengan doxorubicin terhadap kenaikan aktivitas daya hambat pertumbuhan sel kanker payudara, (3) mekanisme molekuler secara *in vitro* terhadap ekspresi protein yang berperan dalam antiangiogenesis, antiproliferasi, apoptosis dan immunomodulator (Caspase 9, BAX, Ki67) hasil tahun pertama telah deseminasikan pada Seminar Internasional BPN 4 April 2014 dengan judul *Screening Active Fraction of Ethanolic Extract of Pasak Bumi (Eurycomalongifolia Jack) Root as Antioxidant* dan dibuatnya dua buku ajar Biologi Sel serta Kanker dan Karsinogenesis. Publikasi dilakukan pada Jurnal Farmasiana dengan judul Uji Genotoksik Fraksi Etil Asetat Akar Pasak Bumi terhadap Ekspresi Gen COX-1 dan COX-2 pada sel T47D dan MCF-7, dan pada **tahun kedua:** (1) uji aktivitas ko kemoterapi serta mekanisme molekulernya secara terhadap ekspresi protein yang berperan dalam antiangiogenesis, antiproliferasi, dan apoptosis (COX-2, p53, BCL-2, Caspase-3, Caspase-8, Caspase 9, BAX, Ki67) *in vivo*, serta (2) genotoksik kombinasi fraksi etil asetat akar pasak bumi dan doxorubicin terhadap hewan coba, dan pada **tahun ketiga:** (1) diperoleh sediaan akar pasak bumi, serta (2) dilakukan uji klinik sehingga diperoleh fitofarmaka.

Metode yang akan dipakai: Metode yang akan dipakai pada **tahun pertama**, (1) dilakukan ekstraksi, fraksinasi, isolasi, dan identifikasi senyawa aktif kuasinoid pada fraksi etil asetat serta (2) uji sitotoksitas dan antiproliferatif pada sel kanker payudara MCF-7 dan T47D dalam bentuk tunggal dan kombinasi dengan doxorubicin. Mekanisme molekuler diamati dengan pengujian antikarsinogenesis melalui antiangiogenesis terhadap antiangiogenesis, antiproliferasi, dan apoptosis (COX-2, p53, BCL-2, Caspase 9, BAX, dan Ki67) pada sel kanker payudara MCF-7 dan T47D. **Tahun kedua**, dilakukan (1) Metode imunohistokimia terhadap ekspresi protein yang terlibat dalam angiogenesis, antiproliferasi, dan apoptosis (COX-2, p53, BCL-2, Caspase 9, BAX dan Ki67), (2) uji genotoksik dengan menggunakan metode MNCPE dan perhitungan mitotic index dengan flurometry dan dianalisis dengan program Modfit LT 3.0. **Tahun ketiga**, (1) Metode pembuatan kapsul untuk mendapat sediaan, serta (2) uji klinik pada manusia sehat dan sakit.

Key words: Akar pasak bumi, ko-kemoterapi, mekanisme molekuler

PRAKATA

Puji dan syukur dipanjatkan kehadirat Allah swt sehingga laporan akhir penelitian Potensi Efek Antikanker Kombinasi Fraksi Etil Asetat Akar Pasak Bumi (*Eurycoma longifolia Jack*) dengan Obat Kemoterapi Kanker. Penelitian ini merupakan penelitian penelusuran senyawa aktif yang terdapat dari fraksi etil asetat akar pasak bumi yang memiliki efek ko-kemoterapi. Hasil yang diperoleh dari penelitian ini secara keilmuan adalah memperoleh sediaan fraksi etil asetat sebagai ko-kemoterapi dengan mekanisme molekuler. Hasil program kegiatan ini adalah mempercepat lulusan farmasi S2 yang mengikuti program ini. Pada tahun pertama ada 7 mahasiswa yang terlibat, 3 sudah ujian tesis, 3 sedang mengajukan ujian dan 1 masih revisi. Pada tahun kedua, ada 5 mahasiswa S2 yang akan seminar proposal pada bulan september 2015 (pada semester 2). Pada agustus 2016 para mahasiswa tersebut sudah lulus dan akan dimasukkan lagi empat mahasiswa di tahun ketiga dan enam mahasiswa S1. Semua mahasiswa S1 pada Oktober 2016 sudah lulus. Tiga mahasiswa farmasi S2 sudah melakukan seminar proposal.

Pada kesempatan ini kami mengucapkan terima kasih kepada DIKTI melalui pendanaan program hibah tim pascasarjana, yang telah membiayai penelitian hibah tim pascasarjana tahap ketiga ini. Semoga penelitian ini tidak berhenti sampai disini, tapi dapat dilanjutkan untuk dibentuk menjadi suatu formulasi. Rasa terimakasih kami sampaikan pula kepada LPP UAD yang telah memfasilitasi pengadaan, pengiriman proposal, dan memberi fasilitas kemudahan dalam menyelesaikan program ini sampai akhir.

Akhir kata, kami menyadari masih banyaknya keterbatasan dalam hasil penelitian ini yang diakibatkan karena berbagai kendala yang harus dilalui dalam pelaksanaannya. Sehubungan dengan hal tersebut kami siap menerima masukan dan sarana untuk kesempurnaan penelitian ini.

Yogyakarta, November 2016



Tim Pelaksana Peneliti

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL.....	i
HALAMAN PENGESAHAN.....	ii
SURAT PERNYATAAN	iii
BERITA ACARA PENYELESAIAN PEKERJAAN.....	iv
BERITA ACARA SERAH TERIMA LAPORAN AKHIR	v
BERITA ACARA LAPORAN PENGGUNAAN KEUANGAN 100%	vi
RINGKASAN	vii
PRAKATA.....	viii
DAFTAR ISI.....	ix
DAFTAR TABEL.....	xi
DAFTAR GAMBAR.....	xiii
DAFTAR LAMPIRAN	xv
BAB I. PENDAHULUAN.....	1
1.1.Latar Belakang dan Permasalahan yang Akan Diteliti	1
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	3
2.1 State of Arts terkait Ekstrak Akar Pasak Bumi sebagai Kemoterapi.....	3
2.1.1. Kanker dan Mekanisme molekuler kemoterapi serta immunomodulator	3
2.1.2. Peran Senyawa Aktif dalam Akar Pasak Bumi sebagai Kemoterapi	5
2.1.3. Doxorubicin dan Efek Sampingnya.....	6
2.2. Studi Pendahuluan dan Hasil yang sudah Dicapai.....	6
2.3. Road Map penelitian	9
BAB 3. TUJUAN DAN MANFAAT PENELITIAN	13
3.1 Tujuan Penelitian	13
3.2 Manfaat Penelitian	13
BAB 4. METODE PENELITIAN.....	15
4.1. Desain Penelitian	15

BAB 5. HASIL DAN YANG DICAPAI.....	22
5.1 Ekstraksi	22
5.2 Identifikasi kualitatif	24
5.3 Identifikasi kuantitatif	25
5.3.1 Pembelian <i>eurycomanone</i>	25
5.3.2 Uji Imunohistokimia	26
5.4 Formulasi Kapsul	27
5.4.1 Penetapan Susut Pengeringan Serbuk.....	27
5.4.2 Penggunaan dosis	28
5.4.3 Pembuatan serbuk ekstrak.....	29
5.4.4 Formulasi	30
5.4.5 Evaluasi sediaan kapsul	31
5.5 Uji Klinik.....	34
5.5.1 <i>Vital sign</i>	36
5.5.2 Profil Hematologi Darah.....	44
5.5.3 Profil Fungsi hati	56
5.5.4 Profil Lemak.....	65
BAB 6. KESIMPULAN	75
DAFTAR PUSTAKA.....	76
LAMPIRAN.....	82

DAFTAR TABEL

Tabel 1. Hasil IC50 ($IC_{50} \pm SE < 5\%$) dengan <i>Metilen Blue Assay</i> untuk ekstrak akar <i>Eurycoma longifolia</i> Jack.....	7
Tabel 2. Hasil penelitian tahun pertama, kedua dan ketiga	11
Tabel 3. Hasil Uji Imunohistokimia ekstrak akar pasak bumi.....	26
Tabel 4. Data penetapan susut pengeringan serbuk akar pasak bumi	28
Tabel 5. Kadar air serbuk ekstrak etanol kering akar pasak bumi dengan Vivapur 101	29
Tabel 6. Formula kapsul ekstrak etanol akar pasak bumi.....	30
Tabel 7. Data Keseragaman bobot kapsul ekstrak etanol akar pasak bumi.....	31
Tabel 8. Data waktu hancur kapsul ekstrak etanol akar pasak bumi.....	32
Tabel 9. Data higroskopis kapsul ekstrak etanol akar pasak bumi hari ke-1 sampai hari ke 7.....	33
Tabel 10. Data <i>vital sign</i> relawan sehat laki-laki pada hari ke-0 dan hari ke-14 pemberian kapsul ekstrak etanol akar pasak bumi	37
Tabel 11. Data analisis statistik <i>vital sign</i> relawan sehat laki-laki pada hari ke-0 dan hari ke-14 pemberian kapsul ekstrak etanol akar pasak bumi	38
Tabel 12. Perbedaan vital sign relawan sehat perempuan pada hari ke-0 dan hari ke-14 pemberian kapsul ekstrak etanol akar pasak bumi	39
Tabel 13. Data analisis statistik <i>vital sign</i> relawan sehat perempuan pada hari ke-0 dan hari ke-14 pemberian kapsul ekstrak etanol akar pasak bumi	40
Tabel 14. Nilai parameter hematologi darah relawan sehat laki-laki hari ke-0 pemberian kapsul ekstrak etanol akar pasak bumi	47
Tabel 15. Nilai parameter hematologi darah relawan sehat laki-laki hari ke-14 pemberian kapsul ekstrak etanol akar pasak bumi	48
Tabel 16. Perbedaan Nilai Hematologi Darah Setelah Pemberian Kapsul Ekstrak Etanol Akar Pasak Bumi.....	49
Tabel 17. Nilai parameter hematologi darah relawan sehat perempuan hari ke-0 pemberian kapsul ekstrak etanol akar pasak bumi	51
Tabel 18. Nilai parameter hematologi darah relawan sehat perempuan hari ke-14 pemberian kapsul ekstrak etanol akar pasak bumi	52
Tabel 19. Perbandingan Nilai Rata-rata Hematologi Darah Relawan sehat Perempuan Pada Hari ke-0 dan Hari ke-14.....	53

Tabel 20. Hasil pemeriksaan fungsi hati pada relawan sehat perempuan hari ke-0 pemberian kapsul ekstrak etanol akar pasak bumi.	57
Tabel 21. Hasil pemeriksaan fungsi hati pada relawan sehat perempuan hari ke-0 pemberian kapsul ekstrak etanol akar pasak bumi.	57
Tabel 22. Hasil pemeriksaan fungsi hati pada relawan sehat laki-laki hari ke-0 dan hari ke-14 pemberian kapsul ekstrak akar pasak bumi.....	58
Tabel 23. Hasil pemeriksaan fungsi hati pada relawan sehat laki-laki hari ke-0 dan hari ke-14 pemberian kapsul ekstrak akar pasak bumi.....	58
Tabel 24. Perbandingan nilai SGOT dan SGPT hari ke-0 dan hari ke-14 pemberian kapsul ekstrak etanol akar pasak bumi	59
Tabel 25. Perbandingan nilai Bilirubin hari ke-0 dan hari ke-14 pemberian kapsul ekstrak etanol akar pasak bumi	63
Tabel 26. Hasil pemeriksaan profil lemak pada relawan sehat perempuan hari ke-0.	66
Tabel 27. Hasil pemeriksaan profil lemak pada relawan sehat perempuan hari ke-14 pemberian kapsul ekstrak etanol akar pasak bumi	67
Tabel 28. Hasil pemeriksaan profil lemak pada relawan sehat laki-laki hari ke-0 pemberian kapsul ekstrak etanol akar pasak bumi	67
Tabel 29. Hasil pemeriksaan profil lemak pada relawan sehat laki-laki hari ke-14 pemberian kapsul ekstrak etanol akar pasak bumi	68
Tabel 30. Perbandingan nilai profil lemak relawan sehat pada hari ke-0 dan hari ke-14 pemberian kapsul ekstrak etanol akar pasak bumi	69
Tabel 31. Perbandingan nilai rata-rata BUN, kreatinin dan asam urat relawan sehat hari ke-0 dan hari ke-14 setelah pemeberian kapsul ekstrak akar pasak bumi.....	71

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Struktur senyawa yang terdapat di dalam tanaman Pasak Bumi (<i>Eurycoma longifolia</i> Jack) (Jiwajinda, <i>et.al.</i> , 1991; Jiawajinda, <i>et.al.</i> , 2002; Bedir <i>et.al.</i> , 2003).....	8
Gambar 2. <i>Road Map</i> Penelitian Potensi Efek Antikanker Kombinasi Fraksi Etil Asetat Akar Pasak Bumi (<i>Eurycoma longifolia</i> Jack) dengan Obat Kemoterapi.....	10
Gambar 3. <i>Fishbone</i> penelitian Kombinasi akar pasak bumi dan doxorubicin sebagai antikanker.....	15
Gambar 4. Skema Kerja Penelitian Tahun I Uji Kokemoterapi Definitif Fraksi Akar Pasak Bumi	18
Gambar 5. Skema Kerja Penelitian Tahun II Uji Kokemoterapi <i>In Vivo</i> Fraksi Akar Pasak Bumi	19
Gambar 6. Skema Kerja Penelitian Tahun 3 Uji Klinik Fase I.....	21
Gambar 7. Proses ekstraksi akar pasak bumi dengan pelarut etanol.....	23
Gambar 8. Profil kromatografi lapis tipis UV 364 dan 257 : A. Ekstrak etanol akar pasak bumi, B. Fraksi tidak larut etil asetat, C. Fraksi larut etil asetat. Fase ferak Chloroform : metanol (4:1).....	24
Gambar 9. Grafik <i>vital sign</i> relawan sehat laki-laki pada hari ke-0 dan hari ke-14 pemberian kapsul ekstrak etanol akar pasak bumi	38
Gambar 10. Grafik nilai <i>vital sign</i> relawan sehat perempuan pada hari ke-0 dan hari ke-14 pemberian kapsul ekstrak etanol akar pasak bumi.....	40
Gambar 11. Diagram Perbedaan Nilai Hemoglobin, Eritrosit, Hematokrit, Leukosit, Trombosit, RDW, LED jam I dan LED jam II Pada Relawan sehat Laki-laki Hari Ke-0 dan Hari Ke-14 Pemberian Kapsul Ekstrak Etanol Akar Pasak Bumi.....	49
Gambar 12. Diagram Perbedaan Limfosit, Monosit, Neutrofil, Eosinofil dan Basofil Pada Relawan sehat Laki-laki Hari Ke-0 dan Hari Ke-14 Pemberian Kapsul Ekstrak Etanol Akar Pasak Bumi.....	50
Gambar 13. Diagram Perbedaan MCV, MCH dan MCHC Pada Relawan sehat Laki-laki Hari Ke-0 dan Hari Ke-14 Pemberian Kapsul Ekstrak Etanol Akar Pasak Bumi.....	50

Gambar 14. Diagram Perbedaan Nilai Hemoglobin, Eritrosit, Hematokrit, Leukosit, Trombosit, RDW, LED jam I dan LED jam II Pada Relawan sehat Perempuan Hari Ke-0 dan Hari Ke-14 Pemberian Kapsul Ekstrak Etanol Akar Pasak Bumi	53
Gambar 15. Diagram Perbedaan Limfosit, Monosit, Neutrofil, Eosinofil dan Basofil Pada Relawan sehat Perempuan Hari Ke-0 dan Hari Ke-14 Pemberian Kapsul Ekstrak Etanol Akar Pasak Bumi.....	54
Gambar 16. Diagram Perbedaan MCV, MCH dan MCHC Pada Relawan sehat Perempuan Hari Ke-0 dan Hari Ke-14 Pemberian Kapsul Ekstrak Etanol Akar Pasak Bumi	54
Gambar 17. Perbedaan nilai SGOT/SGPT dan Total Protein pada relawan sehat laki-laki hari ke-0 dan hari ke-14 setelah pemberian kapsul ekstrak etanol akar pasak bumi	60
Gambar 18. Perbedaan nilai SGOT/SGPT dan Total Protein pada relawan sehat perempuan hari ke-0 dan hari ke-14 setelah pemberian kapsul ekstrak etanol akar pasak bumi.....	60
Gambar 19. Perbedaan nilai Bilirubin relawan sehat laki-laki hari ke-0 dan hari ke-14 pemberian kapsul ekstrak etanol akar pasak bumi.....	63
Gambar 20. Perbedaan nilai Bilirubin relawan sehat perempuan hari ke-0 dan hari ke-14 pemberian kapsul ekstrak etanol akar pasak bumi.....	64
Gambar 21. Perbedaan profil lemak relawan sehat laki-laki hari ke-0 dan hari ke-14 pemberian kapsul ekstrak etanol akar pasak bumi	69
Gambar 22. Perbedaan profil lemak relawan sehat perempuan hari ke-0 dan hari ke-14 pemberian kapsul ekstrak etanol akar pasak bumi.....	70
Gambar 23. Grafik Perbedaan nilai rata-rata BUN, kreatinin dan asam urat relawan sehat laki-laki pada hari ke-0 dan hari ke-14 setelah mengkonsumsi kapsul ekstrak akar pasak bumi	72
Gambar 24. Grafik Perbedaan nilai rata-rata BUN, kreatinin dan asam urat relawan sehat perempuan pada hari ke-0 dan hari ke-14 setelah mengkonsumsi kapsul ekstrak akar pasak bumi	72

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Instrumen	82
Lampiran 2. Personalia	93
Lampiran 3. Penyusunan Artikel.....	114

BAB I. PENDAHULUAN

1.1.Latar Belakang dan Permasalahan yang Akan Diteliti

Kanker payudara merupakan keganasan yang sering ditemukan pada wanita, dengan insiden sebesar 20% dari seluruh keganasan (Jemal *et al.*, 2008). Pengobatan kanker payudara selama ini dengan kemoterapi, pembedahan, serta radiasi. Kelemahan agen kemoterapi yang banyak digunakan dalam terapi kanker juga membunuh sel kanker namun juga bersifat toksik pada sel normal (Viele, 2007). Hal ini mengharuskan pemikiran dosis agen kemoterapi (yang sering digunakan untuk kanker payudara adalah doxorubicin) harus ditekan. Penambahan ko-kemoterapi merupakan pilihan yang tepat untuk mengatasi hal ini (Diaz-Montero *et al.*, 2009).

Akar pasak bumi mempunyai potensi yang besar sebagai antikanker (Tee *et al.*, 2007) dan berpotensi sebagai ko-kemoterapi kanker payudara (Nurani, *et al.*, 2011). Ekstrak akar pasak bumi terstandar juga mengurangi keparahan kanker testis dan menurunkan konsentrasi testosteron pada tikus (Widyarini, 2012). Ekstrak etanol akar pasak bumi secara tunggal memberikan landasan ilmiah dalam penekanan terjadinya tumor. Namun demikian, penggunaan secara formal mengalami kendala karena di rumah sakit sudah ada protap tertentu dalam pengobatan kanker. Pemikiran pembuatan ko kemoterapi mendekatkan hasil ilmiah pada aplikasi kepada pasien (Mok *et al.*, 2007).

Mekanisme antikanker payudara dapat melalui target hormonal (direpresentasikan dengan *estrogen receptor*) dan target non hormonal. Target non hormonal diarahkan pada pengaturan sinyal transduksi, regulator daur sel dan induksi apoptosis dan pengaturan angiogenesis (Eyler and Rich, 2008). Pengkajian mekanisme tersebut dapat melalui metode *in vitro* maupun *in vivo*. Gen yang juga berpengaruh adalah terjadinya mutasi pada gen BCl-2, p53, COX-1, COX-2,

Caspase-3, Caspase-8, Caspase 9, BAX, dan Ki67 (Anai *et al.*, 2007; Goossens *et al.*, 2007; Soussi and Wiman, 2007). Mekanisme apoptosis diamati dari hasil uji pada Caspase-3, Caspase-8, p53 dan BCl-2. Secara *in vitro*, penggunaan sel T47D dan sel MCF7 terpilih karena merupakan sel kanker payudara dengan karakteristik yang dapat memberikan mekanisme secara menyeluruh (Covaleda *et al.*, 2008; Wickramasinghe *et al.*, 2009). Peningkatan sistem imun dilakukan dengan cara mengkaji ekspresi IL-10, IL-14 dan MHC pada sel limpa tikus SD. Hasil pengujian menunjukkan bahwa pelarut yang optimal adalah fraksi etil asetat dengan standar eurycomanon. Hasil ini sudah dipublikasikan dideseminasi Seminar Internasional dengan judul *Screening Active Fraction of Ethanolic Extract of Pasak Bumi (Eurycoma longifolia Jack) Root as Antioxidant*. Kegiatan tersebut dilakukan **padatahun pertama.**

Tahun kedua dilakukan Metode *in vivo* pada uji ini diperlukan untuk mengetahui aktivitas ko kemoterapi dan genotoksisitas dari obat kanker yang ditambahkan ekstrak akar pasak bumi terstandard isolat aktif. Mekanisme molekuler *in vitro*, *in vivo*, serta uji genotoksik membuat peta yang lengkap untuk menjelaskan mekanisme definitif suatu obat. Penelitian tingkat pascasarjana di bidang farmakologi tentunya sampai aras molekuler semacam ini. Namun demikian biaya yang diperlukan sangat besar sehingga perlu dukungan dana di luar dana mandiri. Setelah mekanisme definitif diketahui maka dilakukan formulasi dan uji klinik pada manusia yang akan dilakukan pada **tahun ketiga**. Uji klinik dilakukan meliputi uji klinik fase I dan fase II atas standard yang diterapkan pada peraturan KBPOM No.9 tahun 2014 dan peraturan KBPOM No.13 tahun 2014.

BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 State of Arts terkait Ekstrak Akar Pasak Bumi sebagai Kemoterapi

2.1.1. Kanker dan Mekanisme molekuler kemoterapi serta immunomodulator

Terapi kanker difokuskan kepada strategi untuk menekan pertumbuhan tumor dengan mereparasi DNA yang mutasi serta mengaktifkan program apoptosis dalam sel (Nitiss, 2009). Pemacuan apoptosis, penghambatan proliferasi, serta antiangiogenis dapat digunakan sebagai penanda untuk prognosis atau meramal respon terhadap terapi kanker (Nassar *et al.*, 2008). Gen dan protein yang terlibat juga dapat dimanipulasikan sebagai sasaran terapeutik. Strategi yang digunakan untuk ini adalah pembuatan ko kemoterapi atau adjuvant untuk menurunkan efek sampingnya pada sel normal dan meningkatkan sistem imun (Tewari *et al.*, 2008) .

Secara umum, terdapat tiga jalur utama antikanker dengan pengaktifan apoptosis, repair DNA, dan antioksidan di dalam sel mamalia (Halliwell, 2007). Apoptosis dapat diinduksi melalui pengaktifan reseptor kematian berperantaran ligan famili faktor nekrosis tumor (TNF) seperti Fas (CD95/APO-1), TNF-R1 dan TRAIL. Selain itu, kematian sel dengan mekanisme apoptosis juga dapat diinduksi oleh famili BCL-2 seperti Bax dan BCL-2 (Kim *et al.*, 2008).

Protein dari famili BCL-2 adalah pengatur utama jalur intrinsik . Adanya isyarat kematian, protein famili BCL-2 diaktifkan melalui modifikasi pasca translasi yang melibatkan proses defosfatasi atau proteolisis (Kang and Reynolds, 2009) dan seterusnya menyebabkan pembebasan faktor proapoptotik dari mitokondria ke dalam sitoplasma (Coley, 2008). Faktor proapoptotik yang terbebas termasuk prokaspase-9, sitokrom c, Smac/Diablo (*Second Mitochondria-derived Activator of Caspase/ DirectIAP Binding Protein with Low pI*), endonuklease G, Omi/HtrA2 dan faktor pencetusapoptosis (AIF) (Ghavami *et al.*, 2009).

Peranan p53 dalam apoptosis telah dibuktikan oleh banyak peneliti. Kajian menunjukkan bahwa, restorasi p53 menghasilkan pengurangan yang signifikan level mRNA Bcl-2 dan bersamaan dengan itu terjadi peningkatan level mRNA Bax (Vazquez *et al.*, 2008). Level p53 yang tinggi dapat mengaktifkan penahanan siklus sel atau apoptosis karena kemampuan p53 sebagai faktor transkripsi yang mengikat DNA dan mengaktifkan gen spesifik. Pada masa yang sama, p53 juga mengaktifkan penghasilan enzim untuk memperbaiki DNA. Jika kerusakan ini tidak dapat diperbaiki, p53 mengaktifkan gen yang menghasilkan protein-protein yang memacu apoptosis (von Minckwitz *et al.*, 2008).

Kanker terjadi akibat dari ekspresi yang tinggi dari COX-2 (Siklooksigenase-2) (Widyarani, 2010). Siklooksigenase 2 merupakan enzim yang ekspresinya diinduksi oleh beberapa promotor tumor, sitokin, faktor pertumbuhan, dan kondisi hipoksia karena stres oksidatif. Ekspresi COX-2 yang berlebihan berkaitan dengan semua tahap karsinogenesis (Greenhough *et al.*, 2009). Kontribusi COX-2 dalam proses karsinogenesis meliputi: a) meningkatkan ekspresi *proangiogenic growth factor*, b) memproduksi produk *eicosanoid*, *tromboxane A2*, *PGE2*, dan *PGI2*, yang secara langsung dapat menstimuli migrasi sel endotelial dan *growth factor* yang menginduksi angiogenesis, c) menghambat apoptosis sel epitelial dengan menstimulasi Bcl-2 atau mengaktifkan AKT (PKB). Hubungan antara COX-2 dan VEGF terlihat pada level ekspresi molekulernya (Schneider and Sledge, 2007). Hasil penelitian terdahulu menunjukkan adanya hubungan yang konsisten antara ekspresi COX-2 dan VEGF serta peranan prostaglandin dalam regulasi ekspresi VEGF. Inhibitor COX-2 dapat menghambat karsinogenesis, termasuk bahan-bahan alam yang berefek sebagai antioksidan sebagaimana isolat kuasinoid (yang salah satunya *Eurycoma longifolia*) (Zhang *et al.*, 2008). Penurunan sistem imun pada penderita kanker perlu mendapat penanganan yang serius.

Pengaruh ekstrak tanaman yang mengandung quasinoid dapat berpengaruh pada limfosit dan sel *mononuclear* secara *in vitro* dapat meningkatkan produksi IL-1b dan TNF α tetapi produksi IL- 4 dan IL-8 tidak meningkat. Pada mencit Balb C yang diinfeksi virus CMV, jinten hitam dapat meningkatkan aktivitas CD4 dan kadar IFN γ tetapi menurunkan aktivitas sel NK (Salem & Hossain, 2000).

Aktivasi protein estrogen menyebabkan adanya pertumbuhan berlebih melalui aktivasi onkoprotein yang lain seperti p13K, Akt, Rat dan ERK. Protein *Myc* merupakan protein faktor transkripsi yang penting untuk pertumbuhan, sedang *Cyc D1* merupakan protein penting dalam kelangsungan *cell cycle progression* sehingga adanya aktivasi tersebut akan mengakibatkan perkembangan kanker yang dipercepat (Cesehi *et al.*, 2005).

2.1.2. Peran Senyawa Aktif dalam Akar Pasak Bumi sebagai Kemoterapi

Eurycoma longifolia berasal dari famili Simaroubaceae, dikenal sebagai pasak bumi atau tongkat ali di Malaysia. Akar tumbuhan ini telah digunakan secara tradisional untuk mengobati sakit kepala, demam malaria, afrodisiaka, disentri dan juga digunakan sebagai suplemen kesehatan, baik sebagai bahan tunggal ataupun dalam bentuk campuran (Ang *et al.*, 2001; Ang *et al.*, 2007).

Efek sitotoksik dan antitumor juga ditunjukkan oleh *E. longifolia* (Kuo *et al.*, 2003). Dalam kajian awal, ekstrak metanol akar *E. longifolia* menunjukkan efek sitotoksik secara *in vitro* pada sel leukemia limfosit murin (P-388) (Nurhanan *et al.*, 2005). Ekstrak metanol tumbuhan ini juga dilaporkan mempunyai aktivitas terhadap sel kanker payudara (MCF-7) dan menginduksi apoptosis. Eurikomanon yang diisolasi dari ekstrak metanol *E. longifolia* juga menunjukkan aktivitas sitotoksik terhadap sel kanker payudara (MCF-7) dan menginduksi apoptosis melalui pengurangan ekspresi protein BCl-2 (Tee and Azimahtol, 2005).

Eurycoma longifolia mengandung eurikomanon bersifat toksik terhadap selkanker ovarium (CaOv-3), sel kanker serviks (HeLa), hepar (HepG2), kulit (HM3KO) dan relatif nontoksik terhadap sel-sel normal. Mekanisme kematian yang diakibatkan oleh eurikomanon adalah secara apoptosis pada sel HeLa (Zakaria *et al.*, 2009) dan MCF-7 (Tee, Cheah *et al.*, 2007), dan sel T47D (Nurani, 2012)

Pada turunan HEPG2, eurikomanon dilaporkan memiliki IC₅₀ 4.21±0.2 µg/mL (Zakaria, Rahmat *et al.*, 2009). Nilai IC₅₀ yang rendah pada turunan sel kanker kulit dan sifatnya yang relatif tidak toksik terhadap turunan sel normal memberikan harapan bagi eurikomanon ini untuk dikembangkan sebagai agen antikanker bagi terapi kanker kulit

2.1.3. Doxorubicin dan Efek Sampingnya

Doxorubicin dapat menimbulkan efek samping dan tidak spesifik, sehingga dapat merusak sel tubuh normal dan dapat menimbulkan resistensi (Smith *et al.*, 2006). Resistensi ini dapat terjadi karena peningkatan ekspresi BCL-2, p53, COX-2, serta VEGF. Doxorubicin merupakan kemoterapi golongan antibiotik yang selain menekan sel kanker juga berpengaruh pada sel normal. Oleh karena itu perlu dilakukan penelitian tentang efek pemberian ekstrak etanol akar pasak bumi terhadap ekspresi BCL-2, p53, COX-2, serta VEGF yang diinduksi doxorubicin agar dapat mengurangi efek samping doxorubicin (Mi *et al.*, 2007).

2.2. Studi Pendahuluan dan Hasil yang sudah Dicapai

Eurycoma longifolia telah digunakan untuk sebagai antioksidan, obat malaria, penambah stamina, antikanker, dan aprodisiaka. Senyawa yang terkandung dalam *E. longifolia* adalah kuasinoid (Miyake *et al.*, 2009) serta alkaloid 9-metoksisantin-6-on (Rosli *et al.*, 2009), dan flavonoid (Nurani, 2008).

Ekstrak metanol akar *E. longifolia* Jack mempunyai aktivitas terhadap *P. falciparum*, sitotoksik (Chan *et al.*, 2007) (Wernsdorfer *et al.*, 2009), anti-

HIV(Bhat and Karim), serta sebagai *plant growth inhibitor* (Tee, Cheah et al., 2007). Ekstrak metanol, n-butanol, kloroform, dan air dari akar pasak bumi sudah diuji efek sitotoksitasnya dengan MTT menggunakan sel KB, DU-145, RD, MCF-7, CaOV-3, dan MDBK (Mahmood, *et al.*,2005). Ekstrak etanol mempunyai potensi yang besar sebagai sitotoksitas dan antiproliferatif terhadap sel T47D dibandingkan ekstrak kloroform, dan air (Nurani, *et al.*, 2009).

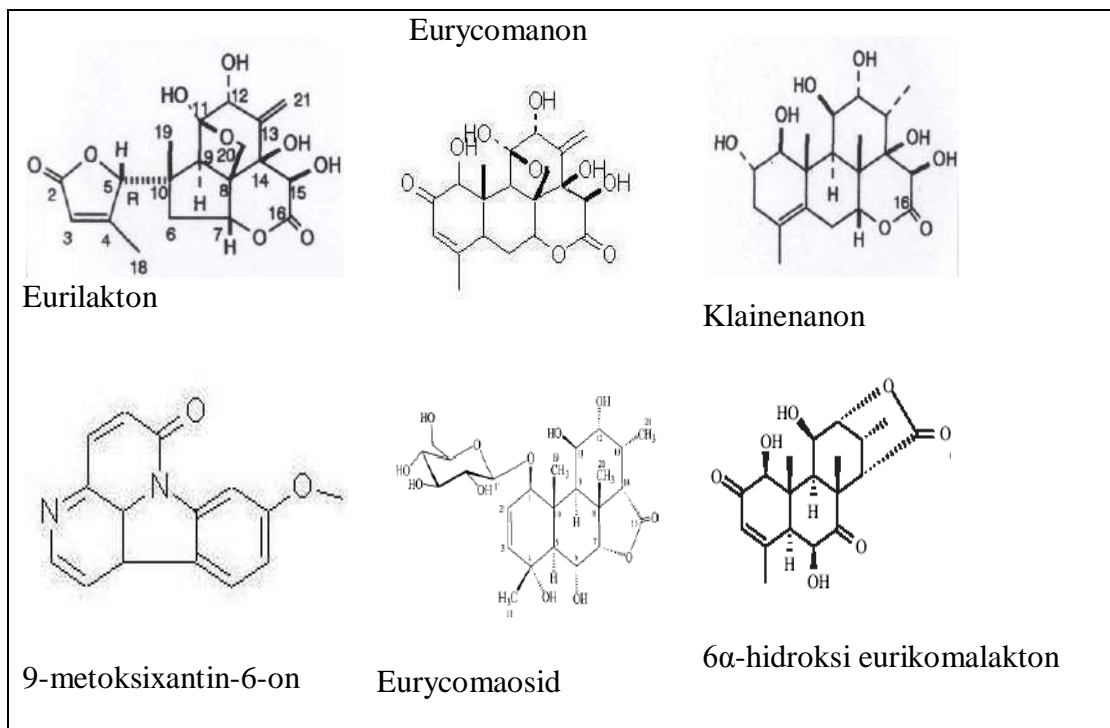
Penelitian yang sudah dilakukan bahwa ekstrak etanol akar pasak bumi adalah aktivitas menginduksi apoptosis pada sel MCF-7 dengan metode pengecatan DNA (Tee, 2005; Low, 2005). Ekstrak metanol, n-butanol, dan kloroform memiliki efek sitotoksik terhadap sel KB, DU-145, RD, MCF-7, CaOV-3, serta MDBK. Hasil IC50 yang diperoleh dari hasil uji sitotoksik terlihat pada Tabel 1. Ekstrak metanol, air, dan metanol:air (1:1) mempunyai aktivitas terhadap sel Human HT-1080 fibrosarcoma sel. Harga IC50 tersebut untuk ekstrak MeOH sebesar 15,8; ekstrak MeOH:H2O sebesar 53,7; dan ekstrak H2O > 100 g/ml. Ekstrak metanol diujikan pada beberapa sel yang lain yaitu sel 26-L5 = 15,8; HeLa= 14,2; LLC = 2,29; A549 = 19,1; dan B16-BL6=9,16 g/ml (Nurhanan, Hawariah *et al.*, 2005).

Tabel 1. Hasil IC50 ($IC_{50} \pm SE < 5\%$) dengan *Metilen Blue Assay* untuk ekstrak akar *Eurycoma longifolia* Jack (Nurhanan, Hawariah *et al.*, 2005)

<i>Cell line</i>	Sampel					
	Ekstrak metanol	Ekstrak n-butanol	Ekstrak Kloroform	Ekstrak air	Tamoxifen	9-methoxycantin-6-one
Caov-3	9,2	11,9	5,9	>100,0	5,3	3,2
DU-145	33,0	21,5	11,7	>100,0	-	-
MCF-7	8,6	33,4	21,7	>100,0	-	-
KB	20,0	19,2	11,2	>100,0	-	-
RD	17,9	>100,0	>100,0	>100,0	-	-
MDBK	32,2	25,2	20,8	>100,0	7,2	18,1

Senyawa-senyawa yang sudah teridentifikasi, yang terkandung dalam akar *E. longifolia* Jack terlihat pada Gambar 1. Alkaloid lain yang terdeteksi dari akar pasak bumi adalah 9-metoksixantin-6-on, 9-metoksixantin-6-on-N-oksida, 9-hidroksixantin-6-on, 9-hidroksixantin-6-on-N-oksida. Senyawa-senyawa tersebut sudah diuji aktivitas sebagai antimalaria (Kardono, et.al., 1991).

Mekanisme penghambatan proses karsinogenesis dapat melalui apoptosis atau program bunuh diri sel. Secara umum jalur yang berperan pada proses apoptosis yaitu jalur p53-bax. Jalur ini terjadi karena gen p53 teraktivasi, sehingga ekspresinya yang berupa protein p53 tinggi. Protein p53 merupakan protein tumor supresor dan regulator yang diaktivasi oleh kerusakan DNA atau stress tertentu pada sel. Protein ini dapat memacu apoptosis melalui peningkatan Bax. Dalam hal ini Bax bersama p53 dan protein lainnya yang selanjutnya terjadi aktivasi berantai sampai terjadi apoptosis (von Minckwitz, Sinn et al., 2008).



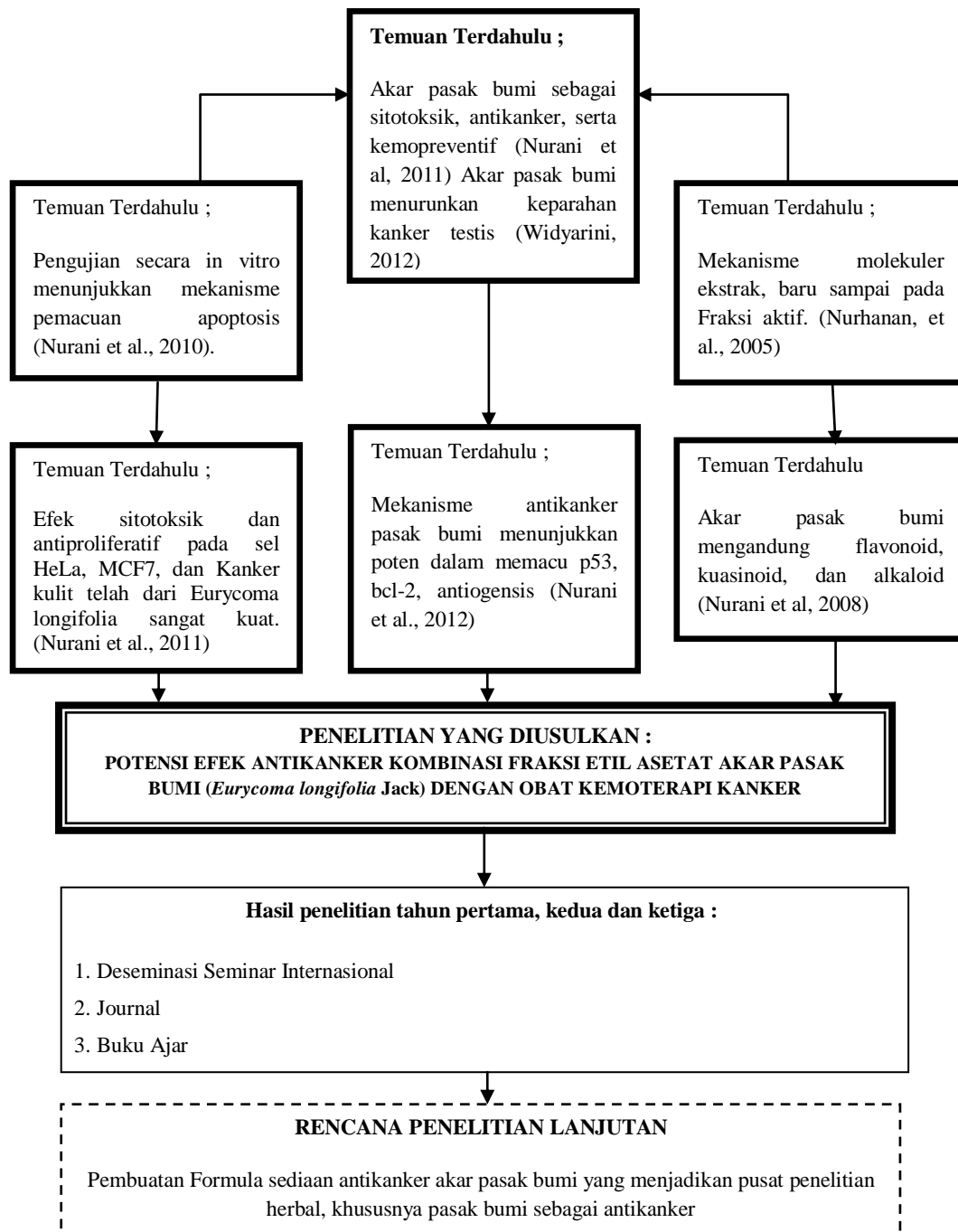
Gambar1. Struktur senyawa yang terdapat di dalam tanaman Pasak Bumi (*Eurycoma longifolia* Jack) (Jiwajinda, et.al., 1991; Jiawajinda, et.al., 2002; Bedir et.al., 2003).

Penelitian pendahuluan yang telah dilaksanakan oleh tim pengusul penelitian adalah mekanisme penghambatan proses karsinogenesis sekunder (metabolitnya yang aktif) dapat melalui inaktivasi enzim yang berperan dalam biosintesisnya. Sitokrom P450 merupakan enzim yang sangat berperan dalam metabolisme karsinogen pada fase I. Penghambatan ekspresi enzim sitokrom P450 menjadikan metabolit aktif menjadi rendah kadarnya di dalam darah. Dengan kondisi yang demikian, diharapkan DNA adduct yang menyebabkan gen lain termutasi menjadi lebih kecil. Gen lain yang umum termutasi pada pemaparan DMBA adalah ras dan CYP450 (Nurani, et al., 2009).

2.3. Road Map penelitian

Penelitian tentang mekanisme molekuler kemopreventif dan antikanker senyawa aktif akar pasak bumi (*Eurycoma longifolia* Jack) kajian *in vitro* pada sel T47D dan *in vivo* pada kanker payudara pada tikus galur SD yang diinduksi DMBA bahwa ekstrak etanol akar pasak bumi dapat berperan sebagai kemopreventif sel kanker payudara melalui mekanisme pemacuan apoptosis dan penghambatan proliferasi (Nurani, 2011).

Penelitian tentang eurikomanon bersifat toksik terhadap sel kanker ovari (CaOv-3), sel kanker serviks (HeLa), hepar (HepG2), kulit (HM3KO) dan relatif nontoksik terhadap sel-sel normal. Mekanisme kematian yang diakibatkan oleh eurikomanon adalah secara apoptosis pada sel HeLa (Zakaria, Rahmat et al., 2009) Azimahtol 2007) dan MCF-7 (Muhamad *et al.*). Pada turunan sel kanker kulit, eurikomanon dilaporkan memiliki IC_{50} 4.21 ± 0.2 $\mu\text{g/mL}$ (Mahfudh and Pihie, 2008).



Gambar2. Road Map Penelitian Potensi Efek Antikanker Kombinasi Fraksi Etil Asetat Akar Pasak Bumi (*Eurycoma longifolia* Jack) dengan Obat Kemoterapi

Tabel 2. Hasil penelitian tahun pertama, kedua dan ketiga

No	Jenis Publikasi	Judul
TAHUN 2014		
SEMINAR		
1	Deseminasi Seminar Nasional, BPTO Tawamanggu, April 2014	Screening Active Fraction of Ethanolic Extract of Pasak Bumi (<i>Eurycoma longifolia</i> , Jack) Root as Antioxidant (Publish)
TAHUN 2015		
No	Jenis Publikasi	Judul
ARTIKEL		
1	JournalOf Tropical Pharmacy& Chemistry (sudah terbit)	Uji Sitotoksik Dan Uji Kombinasi Fraksi Etil Asetat Ekstrak Etanol Akar Pasak Bumi (<i>Eurycomal longifolia</i> Jack.) Dan Doksorubisin Pada Sel Limfosit
2	Journal of Food Properties (Submitted)	The Effects Of Combination Ethanol Extract The Pasak Bumi Roots Induced DMBA (7,12-Dimetilbenz (A) Antrasen) With Chemotherapy Drugs Doxorubicin For Hematologic Examination
SEMINAR		
1	International Conference Herbal Medicine Industrialization as Complementary Therapy and Natural Disasters Yogyakarta, 7 Januari 2015	Co-chemotherapy tes of ethyl acetate fracton of pasak bumi roots extract (<i>Eurycoma longifolia</i> Jack) Againts T47d Cells Which Exposed By Doxorubicin
2	Seminar Nasional Peran Antioksidan Dalam Penanganan Penyakit Degeneratif Yogyakarta, 28 Maret 2015	Efek Fraksi Etil Asetat Ekstrak Etanol Akar Pasak Bumi (<i>Eurycoma longifolia</i> , Jack) Yang Dipapar Doxorubicin Terhadap Ekspresi MHC Kelas II Pada Sel Limfosit
3	Seminar Nasional Peran Antioksidan Dalam Penanganan Penyakit Degeneratif Yogyakarta, 28 Maret 2015	Efek Immunostimulansia Fraksi Etil Asetat Ekstrak Etanol Akar Pasak Bumi (<i>Eurycoma longifolia</i> , Jack) Terhadap Ekspresi IL-12 Dan COX-2 Pada Sel Limfosit Yang Dipapar Doxorubicin
4	Seminar Nasional Peran Antioksidan Dalam Penanganan Penyakit Degeneratif Yogyakarta, 28 Maret 2015	Efek Immunostimulansia Fraksi Etil Asetat Ekstrak Etanol Akar Pasak Bumi (<i>Eurycoma longifolia</i> , Jack) Terhadap Ekspresi Interleukin-10 Pada Sel Limfosit Yang Dipapar Doxorubicin
5	Seminar Nasional Peran Antioksidan Dalam Penanganan Penyakit Degeneratif Yogyakarta, 28 Maret 2015	Uji Imunositokimia Fraksi Etil Asetat Ekstrak Etanol Akar Pasak Bumi (<i>Eurycoma longifolia</i> , Jack) Pada Sel T47D Terhadap Ekspresi Cyclin D1 Yang Dipapar Doxoprubicin
6	Seminar Nasional Peran Antioksidan Dalam	Uji Aktivitas Kombinasi Fraksi Etil Asetat Ekstrak Etanol Akar Pasak Bumi

	Penanganan Penyakit Degeneratif Yogyakarta, 28 Maret 2015	(<i>Eurycoma longifolia</i> , Jack) Dan Doxorubicin Terhadap Ekspresi TRAIL, Kaspase3 Dan Kaspase9 Pada Sel T47D
7	Seminar Nasional Peran Antioksidan Dalam Penanganan Penyakit Degeneratif Yogyakarta, 28 Maret 2015	Efek Kombinasi Fraksi Etil Asetat Ekstrak Etanol Akar Pasak Bumi (<i>Eurycoma longifolia</i> , Jack) Dengan Doxorubicin Terhadap Antiproliferasi Dan Apoptosis Serta Ekspresi Ras Sel T47D
8	Seminar Nasional Peran Antioksidan Dalam Penanganan Penyakit Degeneratif Yogyakarta, 28 Maret 2015	Efek Ko-Kemoterapi Fraksi Etil Asetat Akar Pasak Bumi (<i>Eurycoma longifolia</i> , Jack) Terhadap Ekspresi Bax Dan Bcl-2 Pada Sel T47D
9	Seminar Nasional Farmasi Universitas Mulawarman Yogyakarta, 28 Maret 2015	Uji Sitotoksik dan Uji Kombinasi Fraksi Etil Asetat Ekstrak Etanol Akar Pasak Bumi (<i>Eurycoma Longifolia</i> Jack.) dan Doksorubisin pada Sel Limfosit
10	Pontianak International Conference on Advanced Pharmaceutical Sciences (PICAPS) 2015 Pontianak, 14-15 September 2015	The Effect Of The Combination Of Acetic Ethyl Fraction Of Pasak Bumi Root And Doxorubicin On Leucocytes And Erythrocytes Concentration Of DMBA Induced Sd Mice
TAHUN 2016		
No	Jenis Publikasi	Judul
ARTIKEL		
1	Jurnal Sains dan Kesehatan (sudah terbit)	Pemberian Ko-Kemoterapi Fraksi Etil Asetat Akar Pasak Bumi (<i>Eurycoma longifolia</i> Jack) Terhadap Ekspresi Protein Nf-K β Pada Tikus Sprague Dawley Yang Diinduksi DMBA
2	Pharmaciana (sudah terbit)	Pengaruh Pemberian Kombinasi Fraksi Etil Asetat Akar Pasak Bumi Dan Doxorubicin Terhadap Berat Badan Dan Jumlah Nodul Tikus Sprague Dawley Betina Yang Diinduksi 7,12 Dimetilbenz(A) Antrasen (DMBA)
SEMINAR		
BUKU AJAR		
1	Buku Ajar (UAD Press)	Biologi Sel (120 Halaman)
2	Buku Ajar (UAD Press)	Farmakognosi (120 halaman)
Visiting Scientist		
1	Akademi Farmasi ISFI Banjarmasin	Menjadi Narasumber / pembicara pada Workshop Penulisan Proposal Penelitian

BAB 3. TUJUAN DAN MANFAAT PENELITIAN

3.1 Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan, pada tahun pertama, mengkaji (1) standardisasi senyawa aktif, (2) efek sinergisme campuran fraksi etil asetat dengan doxorubicin terhadap kenaikan aktivitas daya hambat pertumbuhan sel kanker payudara, (3) mekanisme molekuler secara *in vitro* terhadap ekspresi protein yang berperan dalam antiangiogenesis, antiproliferasi, apoptosis dan immunomodulator (BCI-2, p53, COX-2, Caspase-3, Caspase-9, Ki67 dan Bax), serta pada tahun kedua: (1) uji aktivitas antikarsinogenesis serta mekanisme molekulernya secara terhadap ekspresi protein yang berperan dalam antiangiogenesis, antiproliferasi, apoptosis dan immunomodulator (BCI-2, p53, COX-2, Caspase-3, Caspase-9, Ki67 dan Bax), *in vivo*, serta (2) genotoksik kombinasi fraksi etil asetat akar pasak bumi dan doxorubicin terhadap hewan coba, dan pada tahun ketiga:(1) pembuatan formula, dan (2) uji klinik.

3.2 Manfaat Penelitian

Beberapa kepentingan penelitian yang diusulkan dilihat dari beberapa sudut pandang adalah sebagai berikut :

1. Dilihat dari sudut pandang klinis dan epidemiologis, penelitian ini sebagai bagian dari upaya penurunan insidensi kanker payudara dengan pengkajian sediaan ko kemoterapi serta menurunkan efek samping kemoterapi yang diberikan.
2. Dilihat dari sudut pandang ekonomis, penurunan insidensi, prevalensi, mortalitas dan morbiditas kanker dengan strategi ko-kemoterapi dengan ekstrak akar pasak bumi dipandang lebih *health-economics* dan *cost-*

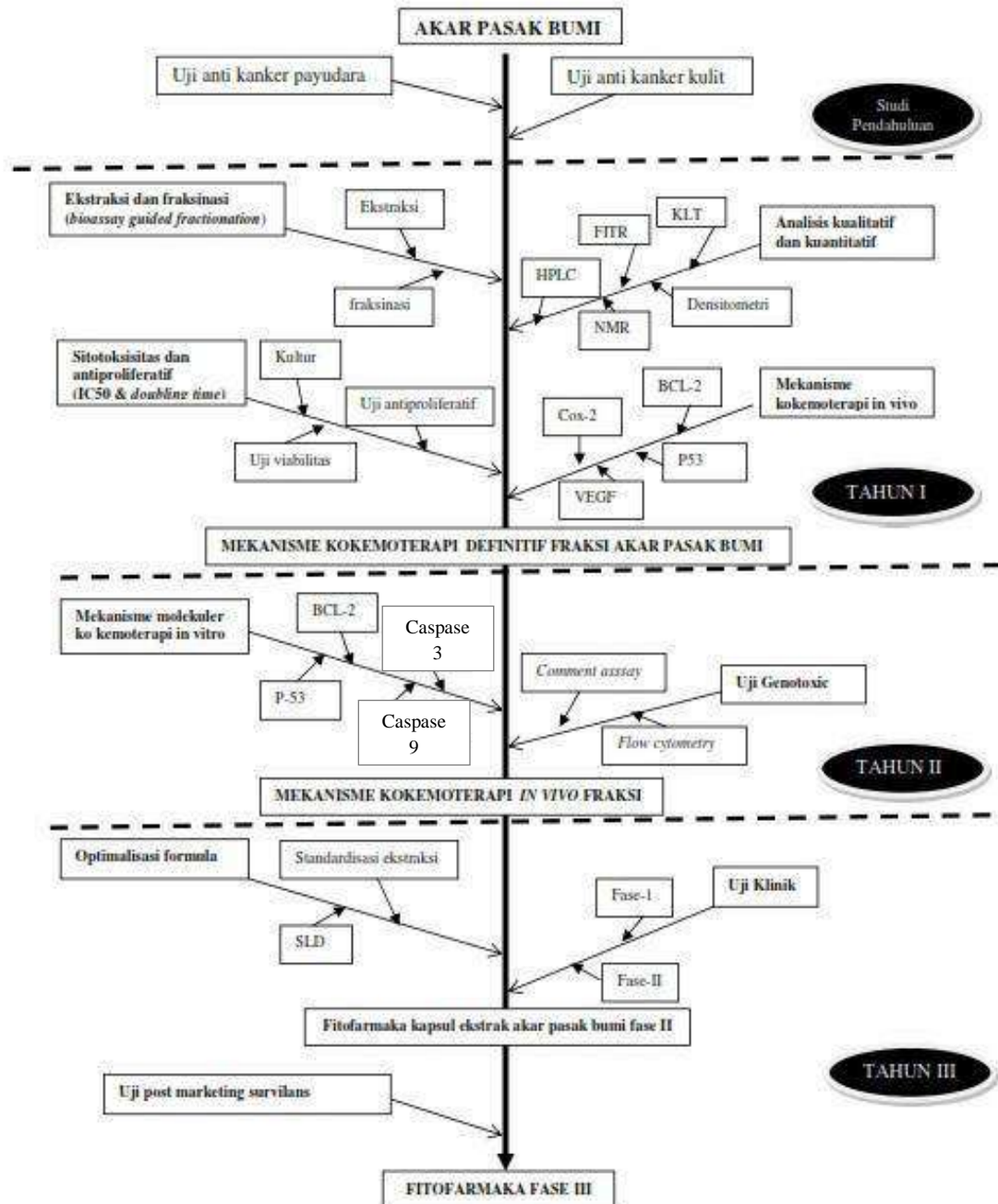
effectivedibandingkan dengan strategi terapi farmakologis karena menggunakan dosis kemoterapi yang lebih rendah.

3. Dilihat dari sudut pandang keilmuan, penelitian ini penting untuk dilakukan untuk mengkaji mekanisme molekuler yang definitive dari sinergi ekstrak terstandard dan doxorubicin.
4. Dari sudut pandang pendidikan pascasarjana, penelitian ini penting untuk meningkatkan kemampuan dan mutu penelitian serta mutu artikel yang dipublikasikan secara nasional dan internasional.

BAB 4. METODE PENELITIAN

4.1. Desain Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian dengan rancangan *research and development* yang dilakukan dalam tiga tahap yang dikerjakan dalam 3 tahun. *Fish bone* penelitian ini dapat dilihat pada Gambar 3.



Gambar 3. *Fishbone* penelitian Kombinasi akar pasak bumi dan doxorubicin sebagai antikanker

Kegiatan Tahun I meliputi :

1. Ekstraksi, dan Fraksinasi akar pasak bumi

a. Ekstraksi akar pasak bumi

Akar pasak bumi diperoleh dari Banjarmasin Kalimantan Selatan kemudian dibuat serbuk dan dikeringkan di Laboratorium Teknologi Sediaan Farmasi UAD. Pembuatan ekstrak dilakukan dengan merendam 5 kg serbuk ke dalam etanol (70%) dan proses maserasi diulang 4 kali. Filtrat diuapkan dengan evaporator sampai diperoleh ekstrak kental.

b. Pembuatan Fraksi Etil asetat

Pembuatan fraksi etil asetat dilakukan dengan cara ekstrak etanol ditambah aquadest 1:1 kemudian dilakukan partisi dengan etil asetat. Partisi dilakukan 3x dan fraksi etil asetat dipekatkan. Fraksi etil asetat dikumpulkan dan kemudian dievaporator sampai diperoleh fraksi kering.

2. Analisis Kualitatif Senyawa dan Kuantitatif.

Analisis kualitatif dengan penetapan *finger print* ekstrak terpurifikasi dengan menggunakan metode KLT Densitometri, FTIR dan NMR.

3. Pengamatan viabilitas sel dan antiproliferatif sel

Pengamatan viabilitas sel dan antiproliferasi sel dilakukan dengan metode MTT. Langkah kerjanya meliputi:

a. Preparasi kultur sel

Sel diambil dari tangki nitrogen kemudian dicairkan dalam penangas 37⁰C. Ampul dibuka dan sel dipindah ke dalam conical tube steril yang berisi media. Sel disentrifugasi dengan kecepatan 650 rpm selama 3 menit, diambil endapannya dan ditambahkan media baru. Sel ditumbuhkan dalam beberapa buah tissue culture flask yang kemudian diinkubasi dalam incubator CO₂ pada 37⁰C dan aliran CO₂ 5%.

b. Pembuatan larutan uji

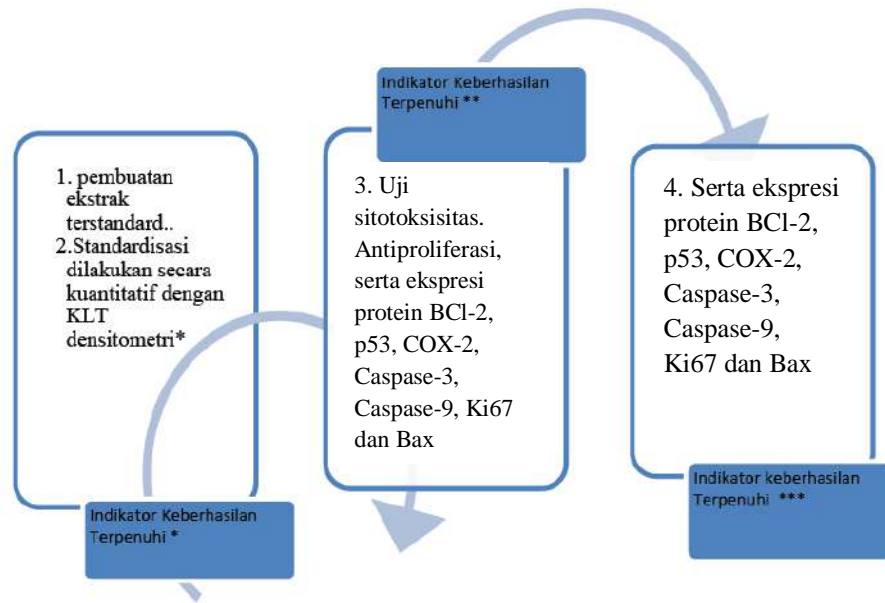
Larutan uji selalu dibuat baru dengan melarutkan senyawa uji dalam DMSO sehingga diperoleh larutan induk dengan konsentrasi 10.000 μ M. Penggunaan DMSO hingga 1% tidak berpengaruh pada proliferasi sel (Lee et al., 2009). Larutan induk diencerkan dengan Bovine Serum Albumin dalam PBS. Larutan uji doxorubicin dengan media kultur sehingga diperoleh seri konsentrasi 50 -800 nM.

c. Uji sitotoksik dengan pengamatan viabilitas sel, antiproliferatif

Uji sitotoksik dengan Viabilitas sel dan antiproliferasi dilakukan dengan metode MTT. Kultur sel MCF-7 dan T47D yang telah konfluen dipanen dan didistribusikan ke dalam plate 96 sumuran dan diinkubasi 24 jam pada suhu kamar. Penambahan media dilakukan setelah jam ke-24. Selanjutnya ditambahkan MTT dan reagen stoper. Sel yang hidup akan bereaksi dengan MTT membentuk kristal formazan berwarna ungu. Pengamatan dilakukan dengan ELISA reader pada lambda 595 nm.

4. Uji Mekanisme molekuler ko kemoterapi secara in vitro

Kultur sel MCF-7 dan T47D yang telah konfluen dipanen dengan tripsin EDTA dan didistribusikan dengan konsentrasi 5×2.10^3 sel / mL. Media kultur sebanyak 100 μ L ditambahkan bersama doxorubicin dengan kombinasi berbagai kadar. Selanjutnya dilakukan inkubasi selama 3 jam 37° C. Sel yang sudah diinkubasi ditambah reagen stopper untuk melarutkan formazan. Sel lanjutkan diinkubasi semalam kemudian dibaca dengan ELISA reader. Bentuk skematis metode kegiatan tahun I seperti terlihat pada Gambar 4.



Gambar 4. Skema Kerja Penelitian Tahun I Uji Kokemoterapi Definitif Fraksi Akar Pasak Bumi

Keterangan Gambar 4:

- *= **Indikator keberhasilan** tahap ini (pembuatan ekstrak terstandar) adalah diperoleh ekstrak terstandar isolat aktif dengan kadar isolat aktif sebagai standard.
- **= **Indikator keberhasilan** tahap ini (uji sitotoksik dan antiproliferasi) adalah diperolehnya harga Inhibition Concentration (IC₅₀) dan Chemotherapy Index (CI)
- ***= **Indikator keberhasilan** diperoleh persen ekspresi protein sel dibandingkan dengan jumlah sel yang ada. Protein yang dianalisis: BCl-2, p53, COX-2, Caspase-3, Caspase-9, Ki67 dan Bax.

Kegiatan Tahun II

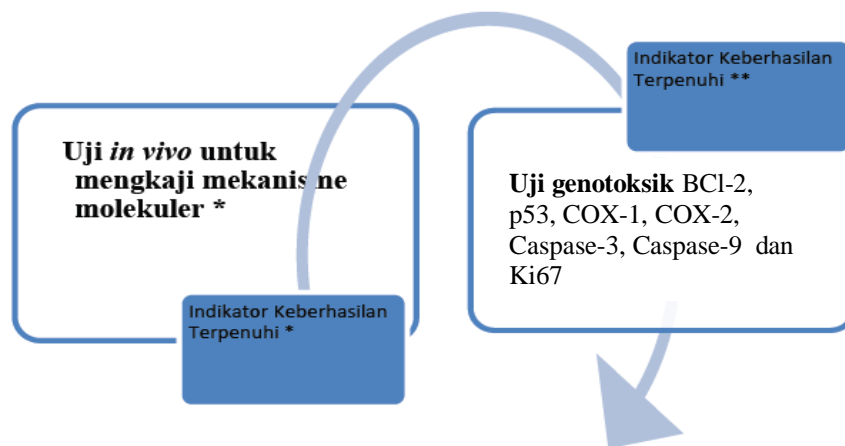
a. Uji *in vivo* untuk mengetahui mekanisme molekuler

Mencit dibuat kanker dengan DMBA (7,3 dimetilbenz(a)anthracene) dengan konsentrasi 15 mg/kg BB dalam oleum sesami. Pelaksanaan uji dilakukan dengan membuat kelompok hewan uji, I. Base line; II. Kontrol negatif; III. Ekstrak dosis 100 mg / kg BB; IV Dosis 200 mg/kg BB; dan V Dosis 400 mg/kg BB. Pemberian ekstrak secara peroral 20 kali, setiap hari selama 20 hari dan diamati setelah 48 pekan kemudian.

Parameter aktivitas dilakukan terhadap histopatologi jaringan dengan pengamatan perubahan morfologinya serta ekspresi protein yang diamati dengan metode imunohistokimia. Ekspresi yang diamati adalah p53, BCl-2, COX-2, dan Caspase 3, Caspase 9 dan Ki67.

b. Uji genotoxic

Uji genotoxic diamati dengan cara yang sama pada uji mekanisme molekuler, namun pada dosis toksik. Dosis yang digunakan adalah 800 mg/kg BB. Metode yang digunakan pada uji genotoxic adalah Commet assay dan menggunakan fluocytometry untuk melihat parameter ekspresi protein seperti pada uji mekanisme molekuler. Bentuk skematis metode kegiatan tahun II terlihat pada Gambar 5.



Gambar 5. Skema Kerja Penelitian Tahun II Uji Kokemoterapi *In Vivo* Fraksi Akar Pasak Bumi

Keterangan Gambar 5.

*= **Indikator keberhasilan** diperoleh % ekspresi BCl-2, p53, COX-2, Caspase-3, Caspase-9 dan Ki67

= **Indikator keberhasilan diperoleh % ekspresi BCl-2, p53, COX-1, COX-2, Caspase-3, Caspase-9 dan Ki67

Pada tahun ketiga

1. Optimasi Formula sediaan kapsul akar pasak bumi

Optimasi formula dilakukan dengan menggunakan metode Simplex Lattice Design.

Pengamatan dilakukan terhadap tiga buah formula 100% ekstrak, 50%:50% ekstrak :

bahan tambahan; serta 100% bahan tambahan. Formula terpilih adalah formula yang mempunyai efek maksimal yang diperoleh. Rumus yang digunakan untuk memperoleh formula terbaik adalah:

$$Y = a[A] + b[B] + c[A][B] \quad Y = \text{formula terbaik}$$

a : koefisien A (laktosa)

b: koefisien B (fruktosa)

A: bahan tambahan A (laktosa)

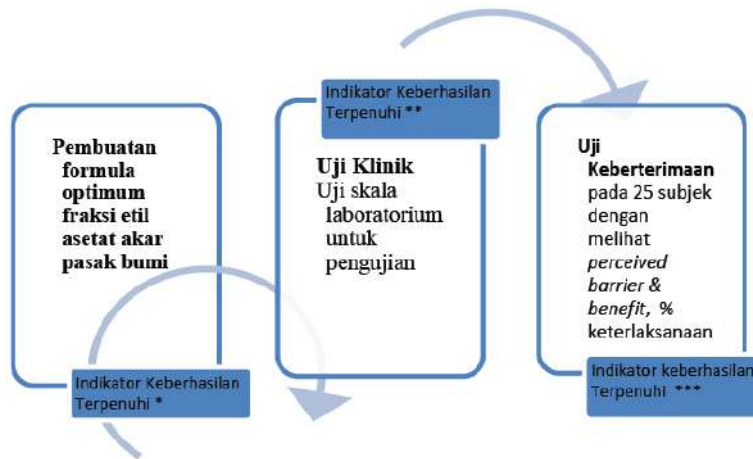
B: bahan tambahan B (fruktosa)

Formula terpilih adalah formula yang menghasilkan sifat fisik tablet yang paling baik.

Sifat fisik yang dikaji adalah: keseragaman bobot, kekerasan, waktu hancur, dan uji disolusi. Batas nilai yang ditetapkan adalah yang ditetapkan dalam Farmakopi Indonesia.

2. Uji klinik

Desain penelitian dilakukan dengan *control experiment design*. Rancangan penelitian dengan pengelompokan pasien menjadi 2 kelompok. Kelompok I dilakukan treatment dengan obat standar kemoterapika dan kelompok II diberikan kombinasi obat standard dengan fraksi etil asetat. Pemberian obat direncanakan selama 6 bulan, interval 1 bulan sekali dilakukan monitoring terhadap hasil uji klinik. Dosis pemberian sediaan obat herbal terstandard fraksi etil asetat dari akar pasak bumi adalah dosis ekstrak setara dengan kandungan eurycomanon 100 mg tablet. Monitoring efek terapi dan efek samping obat akan dilakukan tiap 1 bulan sekali. Bentuk skematis metode kegiatan tahun ke-3 seperti tersaji pada Gambar 6.



Gambar 6. Skema Kerja Penelitian Tahun 3 Uji Klinik Fase I

Keterangan Gambar 6 :

*= Indikator keberhasilan tahap ini diperoleh formula optimum

**= Indikator keberhasilan tahap ini adalah tervalidasinya uji klinik.

***= Indikator keberhasilan uji keberterimaan adalah prosentase keterlaksanaan program $>75\%$ dan *drop out rate* $< 25\%$.

BAB 5. HASIL DAN YANG DICAPAI

5.1 Ekstraksi

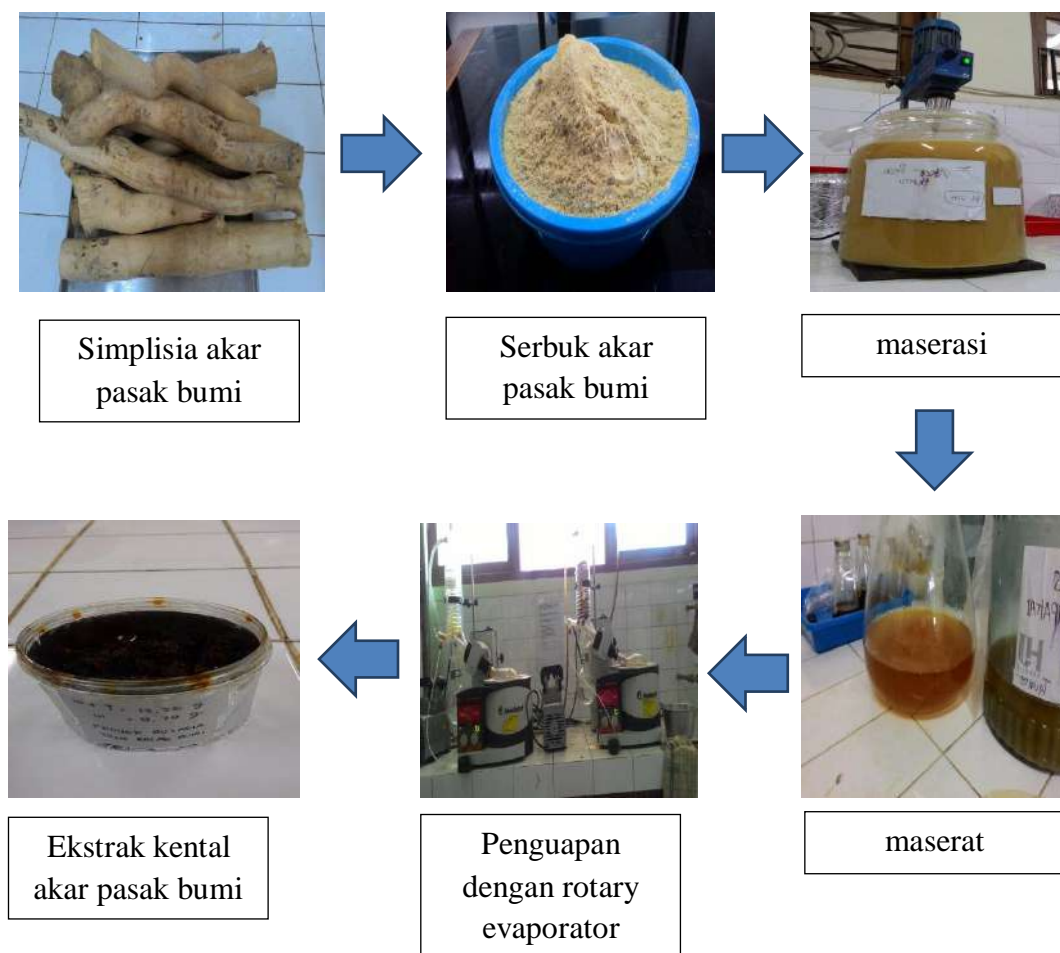
Maserasi merupakan metode ekstraksi yang sering digunakan dalam mengekstrak jaringan tumbuhan. Pada dasarnya metode ini dengan cara merendam sampel menggunakan pelarut organik seperti metanol, etanol dengan sekali-sekali dilakukan pengocokkan dalam suhu ruang. Umumnya perendaman dilakukan 24 jam dan selanjutnya pelarut diganti dengan pelarut baru. Proses maserasi sangat menguntungkan dalam isolasi senyawa bahan alam karena mudah dilakukan.

Bahan baku yang digunakan dalam penelitian ini adalah serbuk akar pasak bumi (*Eurycoma longifolia* Jack). Sebelum maserasi dilakukan, serbuk akar pasak bumi dibersihkan dari kotoran-kotoran, kemudian di keringkan di oven suhu 55°C, selanjutnya serbuk. Sampel dibersihkan agar tidak mengandung banyak senyawa-senyawa atau kotoran pengganggu. Proses pernyerbukan dilakukan untuk memperluas permukaan sentuh sampel, karena luas permukaan mempengaruhi proses maserasi. Semakin kecil ukuran partikel sampel maka luas permukaan semakin besar. Proses pengeringan berguna untuk mengurangi kadar air dalam sampel, karena air dapat mempengaruhi proses penarikan zat aktif dalam sampel.

Sebanyak 10,140 kg serbuk akar pasak bumi di maserasi menggunakan pelarut etanol 70% dalam suhu kamar terlindung dari cahaya. Pelarut etanol 70% digunakan dalam maserasi karena bersifat universal yang dapat mengikat semua komponen kimia yang terdapat dalam tumbuhan bahan alam baik yang bersifat semi polar. etanol 70% adalah cairan penyari yang masuk ke dalam sel melewati dinding sel serbuk serbuk akar pasak bumi. Selama proses perendaman sampel, akan terjadi proses pemecahan dinding dan membran sel akibat perbedaan tekanan di dalam dan di luar sel. Sehingga metabolit sekunder yang ada dalam sitoplasma akan terlarut

dalam pelarut organik dan senyawa akan terekstraksi sempurna, sehingga senyawa zat aktif dapat terekstrak keluar bersama cairan penyari.

Maserasi dilakukan selama 2×24 jam, dimana setiap 24 jam ekstrak etanol 70% disaring dan dimaserasi kembali dengan pelarut yang baru. Ekstrak metanol rimpang jeringau etanol akar pasak bumi yang diperoleh, diuapkan dengan menggunakan penguap putar vakum (*rotary vacuum evaporator*) pada suhu 60°C , selanjutnya diupakan diatas watrebath sampai terbentuk ekstrak kental etanol. Tujuan dari evaporasi yaitu untuk menguapkan pelarut yaitu etanol 70%, sehingga yang tersisa hanya senyawa aktif atau ekstrak kental etanol. Ekstrak kental metanol yang dihasilkan dari maserasi yaitu 386,33 gram berwarna coklat. Proses ekstraksi dapat dilihat pada Gambar 7.

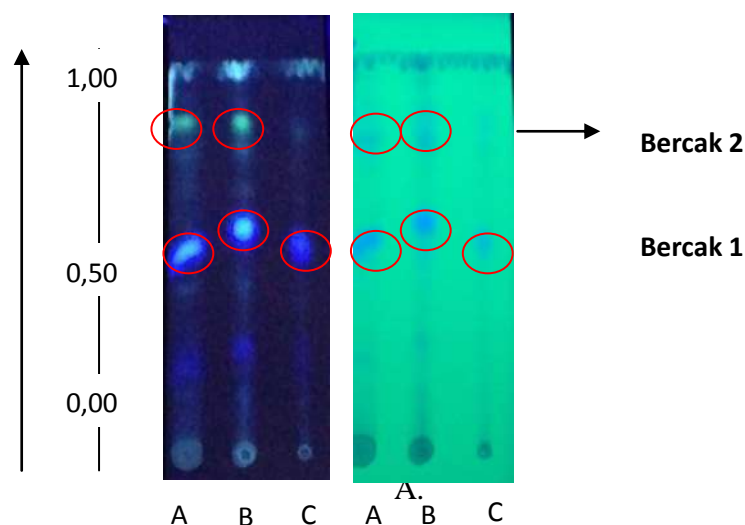


Gambar 7. Proses ekstraksi akar pasak bumi dengan pelarut etanol

5.2 Identifikasi kualitatif

Uji kualitatif senyawa dengan metode KLT merupakan cara sederhana untuk mengidentifikasi suatu senyawa. Data yang diperoleh berupa harga Rf dan warna bercak kromatogram yang diperoleh dari pengembangan bercak pada plat kromatografi lapis tipis. Penelitian ini menggunakan metode Kromatografi Lapis Tipis (KLT). Uji ini bertujuan untuk melihat kebenaran bahwa fraksi etil asetat akar pasak bumi mengandung senyawa *quarctin*. Dasar dari KLT adalah sampel yang akan dianalisis ditotolkan pada salah satu ujung fase diam, kemudian sampel tersebut dikeringkan dan lalu dikembangkan pada fase gerak dalam sebuah *chamber*. Komponen campuran akan bermigrasi pada kecepatan yang berbeda hingga fase gerak melewati fase diam yang disebut dengan pengembangan kromatogram.

Ekstrak diidentifikasi menggunakan metode kromatografi lapis tipis. Fase diam yang digunakan adalah silika gel F₂₅₄ dan fase geraknya adalah asam asetat 50%. Fase gerak tersebut terpilih dari hasil orientasi fase gerak yang mampu memisahkan komponen ekstrak etanol pasak bumi paling baik. Hasil KLT menunjukkan sampel berfluoresensi biru pada UV 254 nm dan berfluoresensi kuning pada UV 366 nm, terlihat pada Gambar 8.



Gambar 8. Profil kromatografi lapis tipis UV 364 dan 257 : A. Ekstrak etanol akar pasak bumi, B. Fraksi tidak larut etil asetat, C. Fraksi larut etil asetat. Fase gerak Chloroform : metanol (4:1).

Profil kromatografi lapis tipis UV 366 nm : A. Standar *quercetin*, B. Fraksi larut etil asetat, C. Ekstrak etanol.

$$R_f = \frac{\text{Jarak yang ditempuh oleh zat}}{\text{Jarak yang ditempuh oleh pelarut}}$$

$$R_f \text{ bercak pertama (Ekstrak etanol dan fraksi larut etil asetat) } = \frac{4,2 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,55$$

Pada Gambar terlihat pemisahan komponen setelah dilakukan elusi dengan fase gerak asam asetat 50 %. Adanya pemisahan komponen menunjukkan bahwa proses ekstraksi yang dilakukan dapat menyari komponen zat aktif.

5.3 Identifikasi kuantitatif

5.3.1 Pembelian *eurycomanone*

Uji kuantitatif dilakukan dengan penetapan kadar *eurycomanone*. Penelitian ini sudah pada tahap pembelian *eurycomanone* pada CV Khrisna Utama, seharga Rp 18.040.000 sebanyak 10 mg *eurycomanone*.

5.3.2 Uji Immunohistokimia

Imunohistokimia merupakan proses untuk mendeteksi antigen pada sel dari jaringan dengan prinsip reaksi antibodi yang berikatan terhadap antigen pada jaringan. Uji imunohistokimia yang dilakukan meliputi gen Caspase-9, Caspase-3, GADD45, IL-10 dan IL-14. Hasil uji gen tersebut dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Hasil Uji Immunohistokimia ekstrak akar pasak bumi

Kelompok	Perlakuan	Rata-rata	Rata-rata	Rata-rata	Rata-rata	Rata-rata
		Caspase-9	Caspase-3	GADD45	IL-10	IL-14
I	Normal (hanya diberi makan dan minum)	65.12 ± 0.57	44,87±1,88	32,83±0,70 ^a	38.72±6,00 ^b	61,37±1,08
II	Ekstrak Akar Pasak Bumi (100 mg/kg BB)	61.79 ± 1.34 ^a	47,48±3,38	36,78±1,38 ^a	41.61±9.31 ^b	64,28±0,72 ^a
III	<i>Doxorubicin</i> (1,17 mg/kg BB)	63.92 ± 0.23 ^a	52,45±3,20 ^a	37,57±0,96 ^a	29.87±7.36	45,50±0,69 ^a
IV	DMBA (20 mg/kg BB)	45.85 ± 1.01	30,67±4,38 ^{ab}	39,75±1,13 ^a	25.31±4.63 ^a _b	42,49±0,75 ^a
V	DMBA+ <i>Doxorubicin</i>	55.95 ± 0.95 ^b	42,24±0,94	42,37±2,12 ^a	28.79±6.38 ^a	47,28±0,58 ^c
VI	DMBA+Ekstrak Akar Pasak Bumi	55.75 ± 1.51 ^b	38,52±2,28 ^b	40,47±2,57 ^b	31.24±6.92	51,91±0,49 ^c
VII	DMBA+ <i>Doxorubicin</i> +Ekstrak Akar Pasak Bumi	62.69 ± 1.98	63,91±2,34 ^b	51,56 ± 2,26 ^a	35.79±5.49 ^b	58,52±0,67
VIII	<i>Doxorubicin</i> +Ekstrak Akar Pasak Bumi	62.88 ± 2.09	42,38±2,10	47,68 ± 1,22 ^a	36.57±7.74 ^b	54,75±0,77

5.4 Formulasi Kapsul

Penggunaan akar pasak bumi sebagai obat tradisional perlu diupayakan dalam bentuk sediaan yang lebih efektif dengan dosis yang lebih tepat. Kandungan kimia akar pasak bumi sangat beragam. Tanaman ini mengandung beberapa macam kuasinoid yang bertanggung jawab terhadap rasa pahit, triterpen triscullane, turunan skualen, bifenil-*neo*-lignan, canthin-6-one dan alkaloid β -karbolin (Bedir, *et al.*, 2003). Sediaan yang mudah dibuat dan dapat menutupi rasa pahit dari akar pasak bumi serta mudah ditelan maka dibuatlah sediaan kapsul (Augsburger, 2000). Dengan demikian, diharapkan dapat meningkatkan penggunaan potensi keanekaragaman hayati dan minat masyarakat dalam mengkonsumsi obat dari bahan alam.

5.4.1 Penetapan Susut Pengerinan Serbuk

Penetapan susut pengeringan serbuk menggunakan alat *Halogen Moisture Analyzer*. Tujuan penetapan susut pengeringan dalam serbuk adalah untuk memenuhi standar air dalam serbuk yang sudah dikeringkan serta untuk menyatakan kandungan zat dalam tanaman sebagai persen kering. Selain itu, juga untuk mengetahui ketahanan suatu bahan dalam penyimpanan. Berdasarkan teori kandungan kadar air yang baik kurang dari 10% sehingga serbuk simplisia memenuhi syarat (Anonim, 2008). Dari hasil penetapan susut pengeringan pada serbuk akar pasak bumi (*Eurycoma longifolia* Jack) dengan replikasi 3 kali secara berturut-turut, yaitu sebesar 3,33%, 3,34%, 3,30%. Berdasarkan susut pengeringan yang ditetapkan dapat dikatakan serbuk simplisia akar pasak bumi (*Eurycoma longifolia* Jack) tersebut memenuhi syarat. Dengan hasil ini

diharapkan simplisia tidak ditumbuhi jamur maupun kapang dan tidak menyebabkan penurunan kualitas akibat reaksi enzimatik dalam simplisia. Data selengkapnya dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 4. Data penetapan susut pengeringan serbuk akar pasak bumi

Replikasi	Bobot serbuk	Kadar air	$X \pm LE$	CV
1	1,537	4,73%		
2	1,534	4,70%	$4,70\% \pm 0.055\%$	0,638
3	1,534	4,67%		

5.4.2 Penggunaan dosis

Menurut penelitian Henkel *et al.*, (2013) menyebutkan bahwa 200 mg ekstrak air akar pasak bumi yang diberikan 2 kali sehari selama 5 minggu kepada laki-laki dan perempuan dapat digunakan sebagai suplemen herbal yang tidak memiliki efek samping dan dapat meningkatkan kekuatan otot yang signifikan pada laki-laki. Hasil penelitian uji tolerabilitas pada manusia menunjukkan bahwa pemberian ekstrak air akar pasak bumi terstandar dosis 1,2 gram dua kali sehari selama 14 hari bersifat aman dan tidak menimbulkan efek samping yang berbahaya (Hayati, 2013).

Studi toksisitas terhadap pasak bumi menyatakan LD_{50} ekstrak akar pasak bumi dosis 2000mg/kgBB (akut) dan 1000mg/KgBB (subakut) tidak menemukan adanya efek samping, hal tersebut sesuai dengan *United Nations Globally Harmonized System of Classification and Labeling of Chemicals* (GHS) (Talbot *et al.*, 2013). Penelitian lain melaporkan LD_{50} pada mencit untuk ekstrak etanol *Eurycoma longifolia* Jack dosis 1500-2000 mg/kgBB, sementara LD_{50} untuk

ekstrak air *Eurycoma longifolia* Jack adalah 3000 mg/kgBB (Jiwajinda *et al.*, 2002). Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan di atas maka dosis yang tepat digunakan adalah 300 mg ekstrak kental akar pasak bumi per kapsul.

5.4.3 Pembuatan serbuk ekstrak

Ekstrak kental ditimbang ± 84 gram dan Vivapur 101 sebanyak ± 84 gram. Ekstrak kental digerus dengan cara ditekan-tekan dan dibuka ekstraknya yang kemudian di masukkan sedikit demi sedikit adsorben Vivapur 101 dan digerus hingga ekstrak dan Vivapur 101 bercampur homogen. Pengerjaan ini dilakukan sampai dengan Vivapur 101 habis dicampurkan dengan ekstrak kental. Setelah pencampuran selesai ekstrak kering yang diperoleh diukur kadar airnya dengan *moisture balance* dan sisanya dioven pada suhu 50°C selama sejam. Kemudian ekstrak kering dikeluarkan dari oven dan didinginkan dalam desikator selama ± 10 menit. Ekstrak kering diambil 2 gram dan dihitung kadar airnya dengan *moisture balance*. Kadar air serbuk ekstrak dengan Vivapur 101 setelah dikeringkan dapat dilihat pada Tabel 5.

Tabel 5. Kadar air serbuk ekstrak etanol kering akar pasak bumi dengan Vivapur 101

Replikasi	Kadar air (%) (ekstrak kental : Vivapur 101)	
	Sebelum dioven	Setelah dioven
1	6,19	3,04
2	6,25	3,1
3	6,21	3,07
X \pm LE	6,217 \pm 0,056	3,070 \pm 0,055
CV	0,49	0,98

Sediaan kapsul bahan alam kadar airnya harus dibawah 5%, semakin kering akan semakin baik. Karena pada proses penyimpanan akan terjadi proses penyerapan kelembaban oleh ekstrak yang terkandung yang bersifat higroskopis sehingga kadar airnya dapat meningkat selama proses penyimpanan. Adanya Vivapur 101 sebagai adsorben dengan perbandingan ekstrak kental (1:1) dengan jumlah cukup besar diharapkan dapat mempertahankan kestabilan sediaan. Penambahan aerosil pada formulasi selanjutnya diharapkan dapat menjaga higroskopisitas sediaan kapsul (Agoes, 2007).

5.4.4 Formulasi

Berdasarkan penelitian oleh Roselyndiar (2012) tentang formulasi kapsul kombinasi ekstrak herba seledri (*Apium graveolens* L.) dan daun tempuyung (*Sonchus arvensis* L.), optimasi pengeringan serbuk ekstrak diperoleh hasil yang paling baik digunakan adalah dengan perbandingan ekstrak kental:Vivapur 101 1:1 untuk serbuk ekstrak herba seledri dan daun tempuyung dan dengan bahan tambahan aerosil 3%, talk 2% dan magnesium stearat 1% menghasilkan kadar air yang paling sedikit. Oleh karena itu pada penelitian ini menggunakan formula tersebut untuk membuat sediaan kapsul ekstrak akar pasak bumi. Formula kapsul ekstrak akar pasak bumi dapat dilihat pada Tabel 6.

Tabel 6. Formula kapsul ekstrak etanol akar pasak bumi

Komponen	Formula
Ekstrak kering (ekstak kental-Vivapur 101 1:1)	600 mg
Amilum jagung	58 mg
Aerosil	3%
Talk	2%
Mg. Stearat	1%
Bobot Total	700 mg

5.4.5 Evaluasi sediaan kapsul

5.4.5.1 Uji keragaman bobot

Uji keragaman bobot dilakukan untuk memastikan bahwa bobot yang terdapat didalam kapsul pada suatu formula memiliki jumlah yang sama dan zat aktif yang sama dengan anggapan serbuk formula terdistribusi homogen. Data hasil uji Keseragaman bobot dapat dilihat Tabel 7.

Tabel 7. Data Keseragaman bobot kapsul ekstrak etanol akar pasak bumi

Replikasi	Netto bobot (g)
1	0,354
2	0,353
3	0,354
4	0,356
5	0,353
6	0,35
7	0,357
8	0,357
9	0,357
10	0,357
11	0,349
12	0,356
13	0,353
14	0,352
15	0,355
16	0,353
17	0,354
18	0,35
19	0,353
20	0,353
Rata-rata	0,3538
CV	0,68378

Berdasarkan persyaratan Farmakope Indonesia edisi III bahwa kapsul dengan bobot rata-rata lebih dari 120 mg tidak boleh memiliki perbedaan dalam persen bobot isi tiap kapsul terhadap bobot rata-rata isi kapsul lebih dari 7,5% dan 15%. Berdasarkan penimbangan kapsul untuk uji keseragaman bobot menunjukkan tidak ada yang menyimpang lebih dari persyaratan. Hal ini menunjukkan bahwa formula memenuhi kriteria untuk keseragaman bobot.

5.4.5.2 Waktu hancur

Untuk memberikan efek terapi, kapsul harus hancur terlebih dahulu hancur menjadi partikel yang lebih kecil, agar isi kapsul dapat terabsorpsi pada saluran cerna. Uji waktu hancur untuk kapsul menunjukkan waktu hancur rata-rata \pm 1 menit 35 detik. Hasil uji waktu hancur menunjukkan bahwa semua formula memenuhi syarat uji waktu hancur kapsul Farmakope Indonesia edisi III yaitu waktu hancur di bawah 15 menit. Data hasil uji waktu hancur dapat dilihat pada Tabel 8.

Tabel 8. Data waktu hancur kapsul ekstrak etanol akar pasak bumi

Replikasi	Waktu hancur kapsul
1	1 menit 36 detik
2	1 menit 33 detik
3	1 menit 36 detik
4	1 menit 36 detik
5	1 menit 33 detik
6	1 menit 33 detik
Rata-rata	1 menit 35 detik
CV	1,2148

Ekstrak adalah bahan yang bersifat higroskopis sehingga mudah menyerap air. Dalam hal ini sediaan dapat tetap stabil dikarenakan penggunaan Vivapur 101 sebagai pembuatan serbuk ekstrak. Vivapur ini juga memiliki sifat sebagai adsorben. Jumlah penggunaan yang cukup besar dengan perbandingan Ekstrak kental:Vivapur 101 (1:1) menghasilkan serbuk kering sediaan lebih kering, halus, mudah homogen dan stabil. Selain itu, penambahan aerosil sebagai adsorben untuk melindungi bahan berkhasiat dari pengaruh kelembaban, membantu meningkatkan homogenitas campuran, dan menghindari lembab akibat reaksi antar bahan (Roselyndiar, 2012).

5.5 Uji Klinik

Penelitian uji klinik masih sangat kurang dilakukan dibandingkan jenis penelitian lainnya, sehingga data khasiat dan keamanan obat herbal pada manusia masih sangat jarang. Agar obat tradisional dapat diterima di pelayanan kesehatan formal/profesi dokter, maka hasil data empirik harus didukung oleh bukti ilmiah adanya khasiat dan keamanan penggunaannya pada manusia. Uji klinik pada manusia hanya dapat dilakukan apabila obat tradisional/obat herbal tersebut telah terbukti aman dan berkhasiat pada uji preklinik (Dewoto, 2007).

Sejauh ini dilaporkan bahwa efeksamping penggunaan akar pasak bumi dalam jumlah besar dapat menyebabkan sulit tidur dan meningkatkan suhu tubuh (Minorsky, 2004). Untuk meningkatkan keamanan penggunaan akar pasak bumi sebagai terapi preventif diperlukan pengukuran *vital sign*. Melalui pengukuran *vital sign*, fungsi hati dan profil hematologi darah, profil lemak dapat mengetahui kondisi fisiologis suatu individu.

Penelitian ini menggunakan relawan sehat sebanyak 10 orang perempuan dan 10 orang laki-laki (Sastroasmoro & Ismael, 2014). Adapun kriteria inklusi dari penelitian ini ialah relawan sehat yang dibuktikan dengan surat keterangan sehat, tidak merokok, tidak mengkonsumsi obat, tidak mengkonsumsi vitamin atau suplemen kesehatan dan laki-laki dan perempuan berumur 18–45 tahun serta bersedia menjadi subjek. Adapun kriteria eksklusi pada penelitian ini, yaitu relawan sehat tidak kooperatif selama penelitian berlangsung, wanita hamil dan wanita menyusui. Pada penelitian ini parameter yang digunakan untuk mengetahui efek kapsul ekstrak etanol akar pasak bumi, meliputi nilai *vital sign* (tekanan darah, *heart rate*, *respiration rate*, suhu tubuh dan berat badan), selanjutnya dilakukan pemeriksaan laboratorium di Parahita *Diagnostic Center*.

Pemeriksaan laboratorium yang dilakukan, meliputi profil hematologi darah, fungsi hati dan profil lemak. Pemeriksaan laboratorium dilakukan untuk mendapatkan informasi yang berguna bagi dokter dan apoteker dalam pengambilan keputusan klinik, salah satunya pemantauan keamanan obat (Kemenkes, 2011)

Penelitian ini menggunakan *pre-post treatment design study*, nilai *vital sign* parameter hematologi darah, fungsi hati dan profil lemak dari relawan sehat diukur sebelum dan sesudah mengkonsumsi kapsul ekstrak etanol akar pasak bumi dengan dosis 300 mg per hari secara oral setiap malam selama 14 hari.

5.5.1 *Vital sign*

Tanda-tanda vital yang digunakan untuk mengukur fungsi dasar tubuh. Pengukuran ini diambil untuk membantu menilai kesehatan fisik secara umum dari seseorang, dan menunjukkan kemajuan ke arah pemulihan. Rentang normal untuk tanda-tanda vital seseorang bervariasi dengan usia, berat badan, jenis kelamin, dan kesehatan secara keseluruhan. Ada empat tanda-tanda vital utama: suhu tubuh, tekanan darah, denyut nadi (denyut jantung), dan tingkat pernapasan (Schriger, 2007).

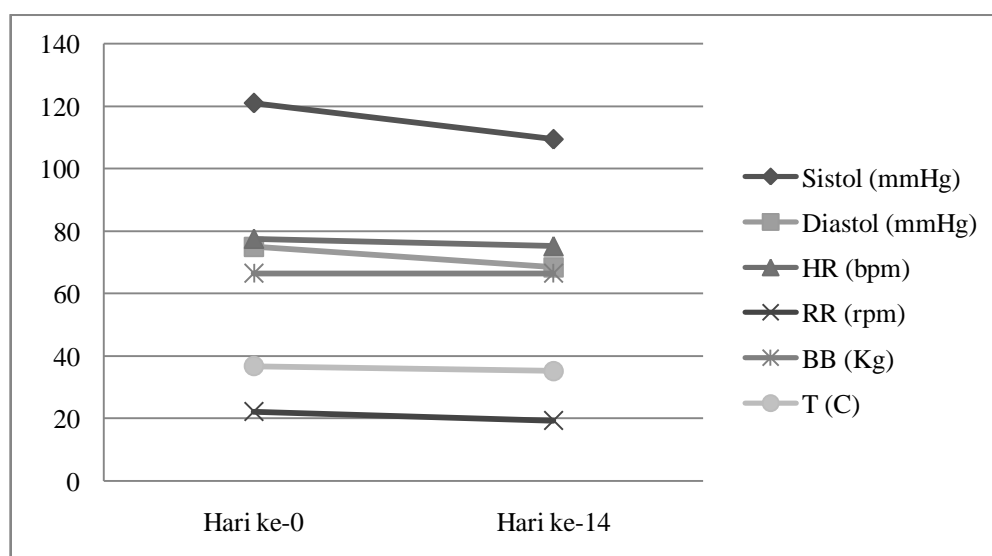
Uji distribusi normal data *vital sign* dilakukan dengan menggunakan uji *Shapiro-Wilk* karena jumlah sampel yang kurang dari 50. Pada pemeriksaan *vital sign* relawan sehat laki-laki dan relawan sehat wanita menggunakan taraf kepercayaan 95%, jika data terdistribusi normal maka analisis dilanjutkan dengan uji *Paired sample T-test*. Jika data tidak terdistribusi normal maka analisis dilanjutkan dengan uji *Wilcoxon*. Data pemeriksaan *vital sign* relawan sehat laki-laki dan perempuan dapat dilihat pada Tabel 10, Tabel 11, Tabel 12, Tabel 13, Gambar 9 dan Gambar 10.

Tabel 10. Data *vital sign* relawan sehat laki-laki pada hari ke-0 dan hari ke-14 pemberian kapsul ekstrak etanol akar pasak bumi

Kode sampel laki-laki	Hari ke-0						Hari ke-14					
	Sistol (mmHg)	Diastol (mmHg)	HR (bpm)	RR (rpm)	BB (Kg)	T (C)	Sistol (mmHg)	Diastol (mmHg)	HR (bpm)	RR (rpm)	BB (Kg)	T (C)
P-1a	115	75	76	20	91	36	90	65	72	20	91	36
P-2a	125	70	80	24	66	36,9	120	70	80	20	68,5	36,2
P-3a	125	80	80	22	64	36,5	120	80	72	18	65	36,4
P-4a	120	80	84	24	88	37,3	110	70	76	20	85,5	36,5
P-5a	130	75	84	24	46	36,8	120	70	92	24	46	36,9
P-6a	130	75	76	24	76,5	37,2	120	80	76	20	75	26,2
P-7a	120	75	88	24	65	37,1	100	60	76	18	64,5	36,4
P-8a	115	70	64	18	51	37	90	60	76	18	51	36
P-9a	110	70	76	22	55	36,7	100	60	64	18	56	36,5
P-10a	120	80	68	20	63	36,8	125	70	68	18	63	36
Rata-rata	121	75	77,6	22,2	66,55	36,8	109,5	68,5	75,2	19,4	66,55	35,3
SD	6,583	4,082	7,351	2,201	14,818	0,377	13,427	7,472	7,495	1,897	14,247	3,214

Tabel 11. Data analisis statistik *vital sign* relawan sehat laki-laki pada hari ke-0 dan hari ke-14 pemberian kapsul ekstrak etanol akar pasak bumi

Vital sign	Rata-rata		Sig	Analisis
	Hari ke-0	Hari ke-14		
Sistol (mmHg)	121 ± 6,583	109,5 ± 13,427	0,018	Wilcoxon Test
Diastol (mmHg)	75 ± 4,082	68,5 ± 7,472	0,009	Wilcoxon Test
HR (rpm)	77,6 ± 7,351	75,2 ± 7,495	0,370	Paired Samples t Test
RR (bpm)	22,2 ± 2,201	19,4 ± 1,897	0,014	Wilcoxon Test
BB (Kg)	66,55 ± 14,818	66,55 ± 14,247	1,000	Paired Samples t Test
T (C)	36,83 ± 0,377	35,31 ± 3,214	0,013	Wilcoxon Test



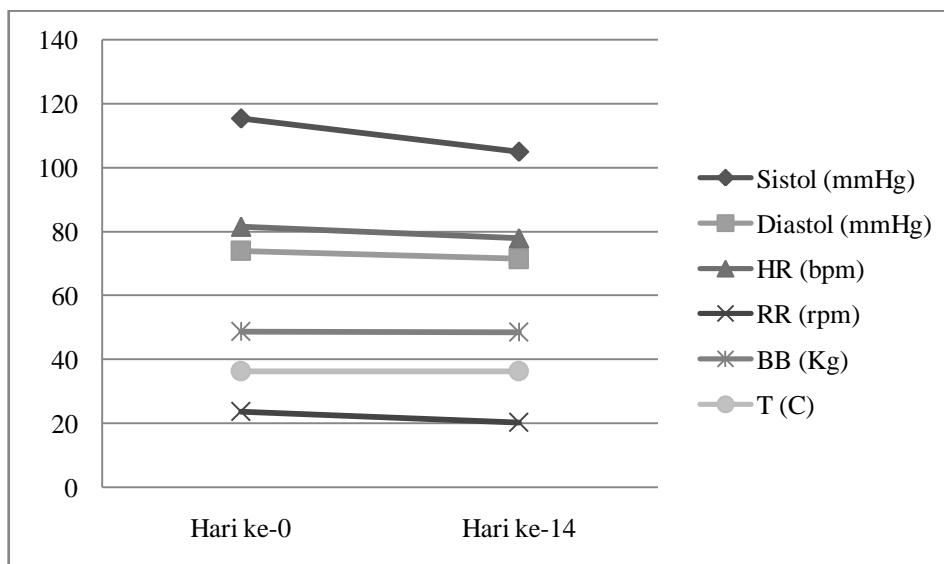
Gambar 9. Grafik *vital sign* relawan sehat laki-laki pada hari ke-0 dan hari ke-14 pemberian kapsul ekstrak etanol akar pasak bumi

Tabel 12. Perbedaan vital sign relawan sehat perempuan pada hari ke-0 dan hari ke-14 pemberian kapsul ekstrak etanol akar pasak bumi

Kode sampel Perempuan	Hari ke-0						Hari ke-14					
	Sistol (mmHg)	Diastol (mmHg)	HR (bpm)	RR (rpm)	BB (Kg)	T (C)	Sistol (mmHg)	Diastol (mmHg)	HR (bpm)	RR (rpm)	BB (Kg)	T (C)
P-1a	110	70	94	28	39	36,4	90	65	88	20	38	36
P-2a	105	70	74	18	64	36	95	65	76	18	63	36,9
P-3a	130	80	88	24	54	36,9	120	80	100	24	52	37,5
P-4a	120	80	78	30	53	35,8	110	75	64	20	52,3	35,9
P-5a	130	80	92	28	44,5	36,1	115	80	76	24	45	36,4
P-6a	130	80	88	26	41	35,7	120	75	80	20	40	36,1
P-7a	100	70	72	20	48	35,6	100	70	84	20	50	36
P-8a	120	70	80	24	50	36,5	110	70	68	18	50	36,3
P-9a	110	70	82	20	55	37	100	70	72	20	55	36,2
P-10a	100	70	68	20	39	36,6	90	65	72	19	41	36,2
Rata-rata	115,5	74	81,6	23,8	48,75	36,26	105	71,5	78	20,3	48,63	36,35
SD	12,122	5,164	8,784	4,158	8,080	0,495	11,547	5,798	10,541	2,111	7,707	0,493

Tabel 13. Data analisis statistik *vital sign* relawan sehat perempuan pada hari ke-0 dan hari ke-14 pemberian kapsul ekstrak etanol akar pasak bumi

Vital sign	Rata-rata		Sig	Analisis
	Hari ke-0	Hari ke-14		
Sistol (mmHg)	115,5 ± 12,122	105 ± 11,547	0.000	Paired Samples t Test
Diastol (mmHg)	74 ± 5,164	71,5 ± 5,798	0,025	Wilcoxon Test
HR (bpm)	81,6 ± 8,784	78 ± 10,541	0.302	Paired Samples t Test
RR (rpm)	23,8 ± 4,158	20,3 ± 2,111	0,027	Wilcoxon Test
BB (Kg)	48,75 ± 8,080	48,63 ± 7,707	0.780	Paired Samples t Test
T (C)	36,26 ± 0,495	36,35 ± 0,493	0,573	Wilcoxon Test



Gambar 10. Grafik nilai *vital sign* relawan sehat perempuan pada hari ke-0 dan hari ke-14 pemberian kapsul ekstrak etanol akar pasak bumi

5.5.1.1 Tekanan darah

Tekanan darah relawan sehat laki-laki dan perempuan sebelum dan setelah diberikan kapsul akar pasak bumi menunjukkan perubahan penurunan rata-rata dan setelah dilakukan uji statistik menghasilkan nilai berbeda signifikan. Hal ini sejalan dengan hasil penelitian pada tikus terhadap pembuluh aorta oleh Tee, *et al.*, (2016) yang menunjukkan hasil bahwa ekstrak etanol akar pasak bumi menyebabkan vasodilatasi, sehingga dapat menurunkan tekanan darah.

Tekanan darah laki-laki dan perempuan cenderung berbeda. Pada usia muda prevalensi hipertensi lebih tinggi pada pria dibandingkan pada wanita, sedangkan pada usia lanjut tekanan darah lebih tinggi pada wanita dibandingkan pada pria (Kearney *et al.*, 2005).

Tekanan darah adalah tekanan yang ditimbulkan pada dinding arteri. Tekanan puncak terjadi saat ventrikel berkontraksi dan disebut tekanan sistolik. Tekanan diastolik adalah tekanan terendah yang terjadi saat jantung beristirahat. Tekanan darah biasanya digambarkan sebagai rasio tekanan sistolik terhadap tekanan diastolik, dengan nilai dewasa normalnya berkisar dari 100/60 mmHg sampai 140/90 mmHg. Rata-rata tekanan darah normal biasanya 120/80 mmHg. Untuk mengukur tekanan darah maka perlu dilakukan pengukuran tekanan darah secara rutin (Smeltzer & Bare, 2001).

5.5.1.2 Denyut Nadi (Heart Rate)

Heart rate relawan sehat laki-laki dan perempuan sebelum dan setelah diberikan kapsul akar pasak bumi menunjukkan tidak berbeda signifikan dan masuk kategori normal karena frekuensi denyut nadi dihitung dalam 1 menit,

normalnya 60-100 kali/menit. Denyut nadi seseorang akan terus meningkat bila suhu tubuh meningkat kecuali bila pekerja yang bersangkutan telah beraklimatisasi terhadap suhu udara yang tinggi (Muffichatum, 2006).

Meskipun akar pasak bumi terkenal banyak khasiatnya, namun aktivitas terhadap jantung belum pernah dieksplorasi. Hal ini perlu dilakukan karena beberapa herbal dikaitkan dengan efek jantung yang merugikan seperti fungsi trombosit berubah, tekanan darah meningkat dan terjadi aritmia (Mokhtar *et al.*, 2014).

Akar pasak bumi secara signifikan dapat meningkatkan jumlah testosteron dan progesteron yang diproduksi oleh testis tikus (Eng, 2007). Selain itu ekstrak akar pasak bumi dapat mengaktifkan enzim yang mengkonversi pregnenolon menjadi progesteron dan mengkonversi 17-OH pregnenolon menjadi dehydropiandrosterone dan kemudian menjadi testosteron. Testosteron secara klinis dapat mengurangi kejadian miokard iskemi pada pasien dengan angina koroner dengan dilatasi arteri dan meningkatkan aliran darah koroner (Pugh, *et al.*, 2002). Hormon ini juga menghasilkan relaksasi arteri pada kontrol sehat, pasien dengan gagal jantung dan laki-laki dengan defisiensi androgen (Malkin *et al.*, 2006).

Menurut penelitian yang dilakukan Mokhtar, *et al.*, (2014) pada tikus bahwa ekstrak akar pasak bumi secara signifikan mengurangi tekanan perfusi koroner namun tidak ada perubahan yang signifikan tekanan ventrikel kiri dikembangkan denyut jantung (HR).

5.5.1.3 Berat Badan

Berat badan relawan sehat laki-laki dan perempuan sebelum dan setelah diberikan kapsul akar pasak bumi menunjukkan tidak berbeda signifikan, hal ini sejalan dengan penelitian klinis Udani, *et al.*, (2014) terhadap laki-laki usia 40–65 tahun yang diberikan *Eurycoma longifolia* (Physta) and *Polygonum minus* selama 12 minggu menunjukkan tidak ada perbedaan yang signifikan dalam tanda-tanda vital, berat badan antara kontrol dibandingkan dengan relawan sehat. Selain itu tidak ada perubahan yang signifikan pada kontrol dibandingkan relawan sehat terhadap hasil fungsi hati dan ginjal yang relevan nilai-nilai, termasuk albumin, AST, ALT, alkali fosfatase, bilirubin, BUN, kreatinin, dan GFR dihitung (Udani *et al.*, 2014).

Hasil pemeriksaan ini juga sejalan dengan penelitian terhadap Tikus galur SD yang diberikan 8 mg/kg ekstrak air akar pasak bumi secara IM satu kali sehari selama 6 minggu tidak menunjukkan perbedaan secara signifikan sebelum dan sesudah perlakuan. Bobot tikus tetap stabil selama penelitian (Ahmad *et al.*, 2011). Penelitian juga dilakukan terhadap berat badan tikus galur SD yang berumur 1 tahun dengan bobot 370–500 g yang diberikan ekstrak kering akar pasak bumi sebanyak 15 mg/kg selama 6 minggu menunjukkan bahwa tidak ada perbedaan signifikan antara kontrol dan kelompok perlakuan (Ariff, *et al.*, 2012).

5.5.1.4 Suhu Tubuh

Suhu tubuh relawan sehat perempuan sebelum dan setelah diberikan kapsul akar pasak bumi menunjukkan berbeda tidak signifikan dan berada dalam suhu normal. Sedangkan Suhu tubuh relawan sehat laki-laki sebelum dan setelah

diberikan kapsul akar pasak bumi menunjukkan berbeda signifikan. Suhu tubuh relawan sehat normal karena suhu rata-rata normal umumnya antara 98,0° F (36,6 °C) dan 98,6 °F (37 °C) ketika diukur secara oral (Schriger, 2007). Suhu tubuh normal dapat dipengaruhi oleh ritme biologis, hormon-hormon, olahraga dan usia. Sejauh ini dilaporkan bahwa efeksamping penggunaan akar pasak bumi dalam jumlah besar dapat menyebabkan sulit tidur dan meningkatkan suhu tubuh (Minorsky, 2004).

5.5.1.5 Respiration Rate (RR)

Respiration rate relawan sehat laki-laki dan perempuan sebelum dan setelah diberikan kapsul akar pasak bumi menunjukkan berbeda signifikan. Tingkat respirasi atau RR adalah jumlah nafas seseorang mengambil per menit. Tingkat biasanya diukur ketika seseorang beristirahat dan hanya melibatkan menghitung jumlah napas selama satu menit dengan menghitung berapa kali dada meningkat. Tingkat respirasi normal untuk orang dewasa saat istirahat adalah 12 sampai 20 napas per menit. Tingkat respirasi di bawah 12 atau di atas 25 napas per menit saat beristirahat dianggap abnormal. Di antara kondisi yang dapat mengubah tingkat pernapasan normal asma, kecemasan, pneumonia, gagal jantung kongestif, penyakit paru-paru, penggunaan narkotika, atau overdosis obat (Schriger, 2007).

5.5.2 Profil Hematologi Darah

Pemeriksaan nilai hematologi darah merupakan salah satu parameter yang diamati pada penelitian ini yang bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian

kapsul ekstrak etanol akar pasak bumi selama 14 hari terhadap nilai hematologi darah pada relawan sehat. Pemeriksaan hematologi darah yang dilakukan, yaitu pemeriksaan hematologi darah lengkap.

Pemeriksaan Darah Lengkap (*Complete Blood Count/CBC*) adalah suatu jenis pemeriksaan penyaring untuk menunjang diagnosa suatu penyakit dan atau untuk melihat bagaimana respon tubuh terhadap suatu penyakit. Disamping itu juga pemeriksaan ini sering dilakukan untuk melihat kemajuan atau respon terapi pada pasien yang menderita suatu penyakit infeksi.

Pemeriksaan Darah Lengkap terdiri dari beberapa jenis parameter pemeriksaan, yaitu hemoglobin (Hb), hematokrit (Hm), leukosit (*White Blood Cell/WBC*), trombosit (platelet), eritrosit (*Red Blood Cell/RBC*), laju endap darah (LED), hitung jenis leukosit (neutrofil, limfosit, monosit, eosinofil, dan basofil), *Red Cell Distribution Width* (RDW) dan indeks eritrosit. Indeks eritrosit terdiri dari, *Mean Cell Volume* (MCV), *Mean Cell Hemoglobin* (MCH) dan *Mean Cell Hemoglobin Concentration* (MCHC).

Analisis data hematologi darah pada penelitian ini untuk uji distribusi normal menggunakan uji *Shapiro-Wilk* karena jumlah sampel dalam penelitian ini kurang dari 50. Pemeriksaan nilai hematologi darah menggunakan taraf kepercayaan 95%. Jika data terdistribusi normal, maka analisis dilanjutkan dengan uji *Paired T-test*. Sedangkan, jika data tidak terdistribusi normal, maka analisis dilanjutkan dengan uji *Wilcoxon*. Data pemeriksaan hematologi darah pada relawan sehat laki-laki dan relawan sehat perempuan dapat dilihat pada Tabel 14,

Tabel 15, Tabel 16, Tabel 17, Tabel 18, Tabel 19, Gambar 11, Gambar 12, Gambar 13, Gambar 14, Gambar 15 dan Gambar 16.

Tabel 14. Nilai parameter hematologi darah relawan sehat laki-laki hari ke-0 pemberian kapsul ekstrak etanol akar pasak bumi

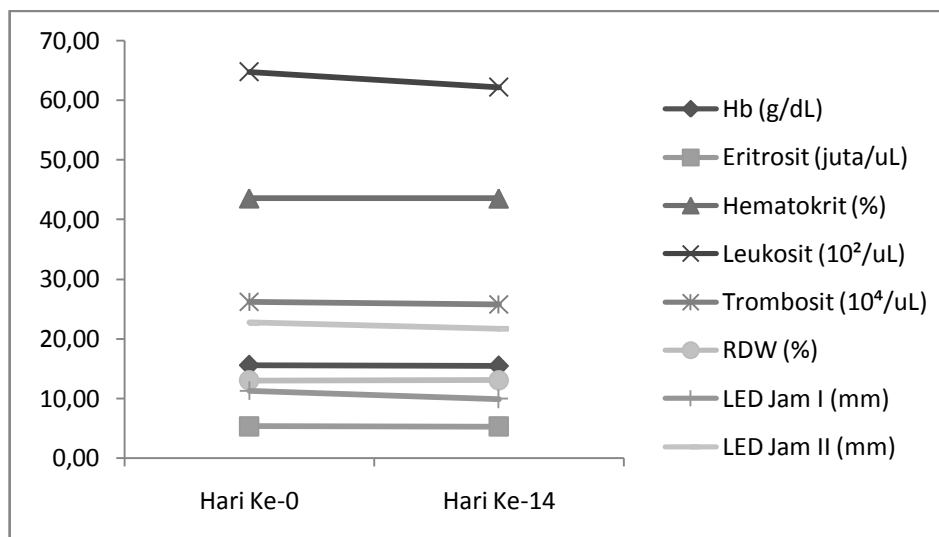
Kode Sampel	Pemeriksaan															
	Hb (g/dL)	Eritrosit (juta/uL)	Hematokrit (%)	Leukosit (/uL)	Trombosit (/uL)	Hitung Jenis					MCV (fl)	MCH (pg)	MCHC (g/dL)	RDW (%)	LED (mm)	
						Limfosit (%)	Monosit (%)	Neutrofil (%)	Eosinofil (%)	Basofil (%)					Jam I	Jam II
P-1a	16,2	5,61	43,1	7.290	272.000	36	6	53	5	0	76,8	28,9	37,6	13,4	4	12
P-2a	14,7	4,76	40,6	5.380	217.000	42	9	47	2	0	85,3	29,8	35,0	12,5	37	66
P-3a	16,5	5,54	47,0	7.080	315.000	40	6	46	8	0	84,8	29,8	35,1	13,0	1	5
P-4a	14,4	5,05	40,3	5.590	250.000	33	10	55	2	0	79,8	28,5	35,7	13,1	36	64
P-5a	16,1	5,87	46,7	8.090	258.000	41	5	51	3	0	79,6	27,4	34,5	12,5	3	8
P-6a	14,9	5,11	42,4	5.410	271.000	43	7	46	4	0	83,0	29,2	35,1	13,8	6	14
P-7a	16,5	5,38	46,2	6.860	265.000	43	7	47	3	0	85,9	30,7	35,7	12,3	6	13
P-8a	16,3	5,75	44,8	7.420	251.000	47	7	42	4	0	77,9	28,3	36,4	13,1	5	12
P-9a	15,3	4,96	42,0	6.450	270.000	36	6	56	2	0	84,7	30,8	36,4	12,3	5	13
P-10a	14,9	5,12	42,4	5.160	248.000	41	6	48	5	0	82,8	29,1	35,1	14,0	10	20
Rata-rata	15,58	5,32	43,55	6.473	261.700	40,20	6,90	49,10	3,80	0	82,06	29,25	35,66	13,00	11,30	22,70
SD	0,82	0,37	2,47	1.028,81	2486,30	4,13	1,52	4,48	1,87	0	3,29	1,06	0,92	0,61	13,48	22,63

Tabel 15. Nilai parameter hematologi darah relawan sehat laki-laki hari ke-14 pemberian kapsul ekstrak etanol akar pasak bumi

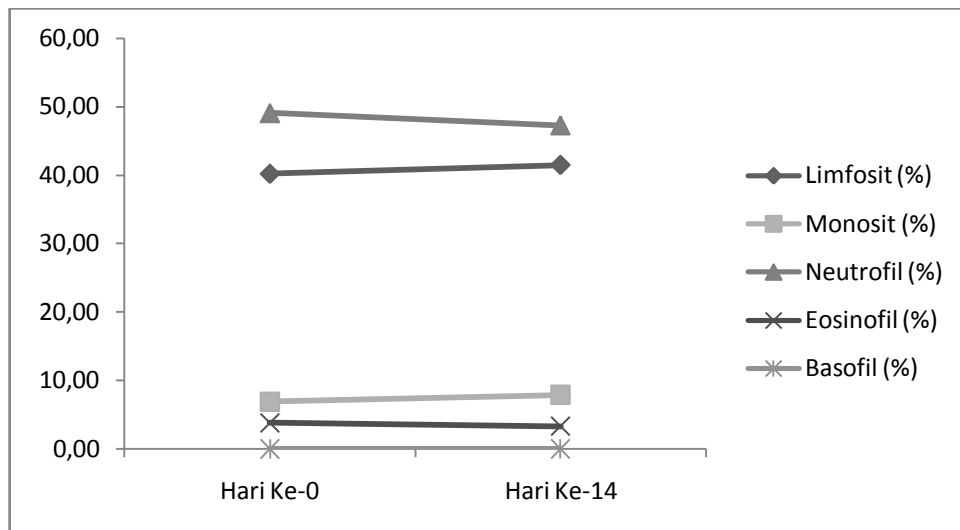
Kode Sampel	Pemeriksaan Hari Ke-14															
	Hb (g/dL)	Eritrosit (juta/uL)	Hematokrit (%)	Leukosit (10 ² /uL)	Trombosit (10 ⁴ /uL)	Hitung Jenis					MCV (fl)	MCH (pg)	MCHC (g/dL)	RDW (%)	LED (mm)	
						Limfosit (%)	Monosit (%)	Neutrofil (%)	Eosinofil (%)	Basofil (%)					Jam I	Jam II
P-1a	16.3	5.71	43.8	77.0	28.9	31	6	59	4	0	76.7	28.5	37.2	13.6	4	11
P-2a	13.8	4.59	39.3	49.1	20.3	50	11	38	1	0	85.6	30.1	35.1	12.8	28	54
P-3a	16.3	5.47	46.2	82.2	30.8	39	7	51	3	0	84.5	29.8	35.3	13.0	6	11
P-4a	14.4	5.12	41.4	44.9	26.6	47	8	43	2	0	80.9	28.1	34.8	13.6	11	25
P-5a	16.1	5.84	46.3	73.1	29.7	50	7	38	5	0	79.3	27.6	34.8	12.5	2	6
P-6a	14.9	5.16	42.9	54.2	27.5	42	8	46	4	0	83.1	28.9	34.7	13.6	5	10
P-7a	15.9	5.13	44.2	65.1	24.6	38	5	55	2	0	86.2	31.0	36.0	12.2	10	30
P-8a	15.4	5.47	42.9	72.1	22.6	42	12	41	5	0	78.4	28.2	35.9	13.4	10	20
P-9a	16.1	5.20	44.2	52.4	23.2	34	7	57	2	0	85.0	31.0	36.4	12.4	3	7
P-10a	15.4	5.33	44.1	51.7	23.5	42	8	45	5	0	82.7	28.9	34.9	13.4	20	43
Rata-rata	15.46	5.30	43.53	62.18	25.77	41.50	7.90	47.30	3.30	0.00	82.24	29.21	35.51	13.05	9.90	21.70
SD	0.86	0.35	2.09	13.27	3.45	6.33	2.13	7.76	1.49	0.00	3.27	1.21	0.84	0.54	8.27	16.36

Tabel 16. Perbedaan Nilai Hematologi Darah Setelah Pemberian Kapsul Ekstrak Etanol Akar Pasak Bumi

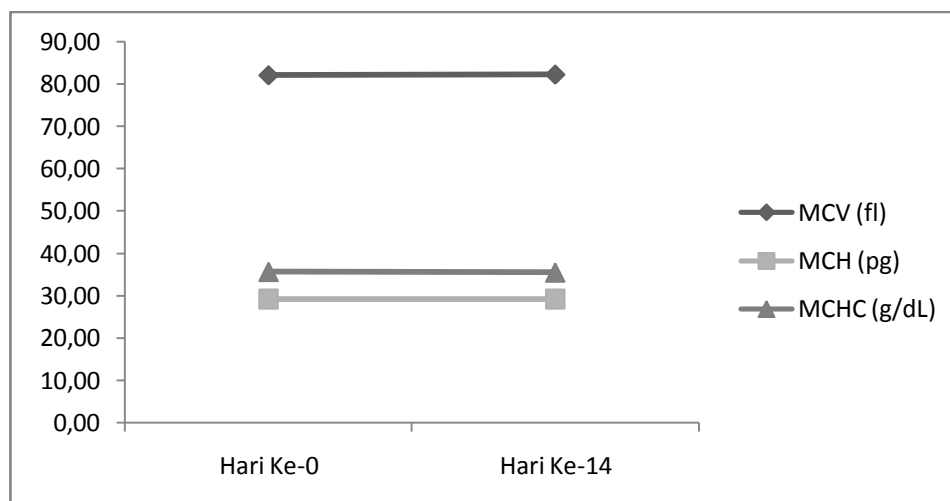
Parameter	Mean±SD		P
	Hari Ke-0	Hari Ke-14	
Hb (g/dL)	15,58±0,82	15,46±0,86	0,512
Eritrosit (juta/uL)	5,32±0,37	5,30±0,35	0,825
Hematokrit (%)	43,55±2,47	43,53±2,09	0,967
Leukosit (10^2 /uL)	64,73±10,29	62,18±13,27	0,283
Trombosit (10^4 /uL)	82,06±3,29	82,24±3,27	0,212
Limfosit (%)	29,25±1,06	29,21±1,21	0,662
Monosit (%)	35,66±0,92	35,51±0,84	0,264
Neutrofil (%)	13,00±0,61	13,05±0,54	0,622
Eosinofil (%)	26,17±2,49	25,77±3,45	0,596
Basofil (%)	40,20±4,13	41,50±6,33	0,556
MCV (fl)	6,90±1,52	7,90±2,13	0,158
MCH (pg)	49,10±4,48	47,30±7,76	0,464
MCHC (g/dL)	3,80±1,87	3,30±1,49	0,413
RDW (%)	0±0	0±0	0
LED Jam I (mm)	11,30±13,48	9,90±8,27	0,953
LED Jam II (mm)	22,70±22,63	21,70±16,36	1,000



Gambar 11. Diagram Perbedaan Nilai Hemoglobin, Eritrosit, Hematokrit, Leukosit, Trombosit, RDW, LED jam I dan LED jam II Pada Relawan sehat Laki-laki Hari Ke-0 dan Hari Ke-14 Pemberian Kapsul Ekstrak Etanol Akar Pasak Bumi



Gambar 12. Diagram Perbedaan Limfosit, Monosit, Neutrofil, Eosinofil dan Basofil Pada Relawan sehat Laki-laki Hari Ke-0 dan Hari Ke-14 Pemberian Kapsul Ekstrak Etanol Akar Pasak Bumi



Gambar 13. Diagram Perbedaan MCV, MCH dan MCHC Pada Relawan sehat Laki-laki Hari Ke-0 dan Hari Ke-14 Pemberian Kapsul Ekstrak Etanol Akar Pasak Bumi

Tabel 17. Nilai parameter hematologi darah relawan sehat perempuan hari ke-0 pemberian kapsul ekstrak etanol akar pasak bumi

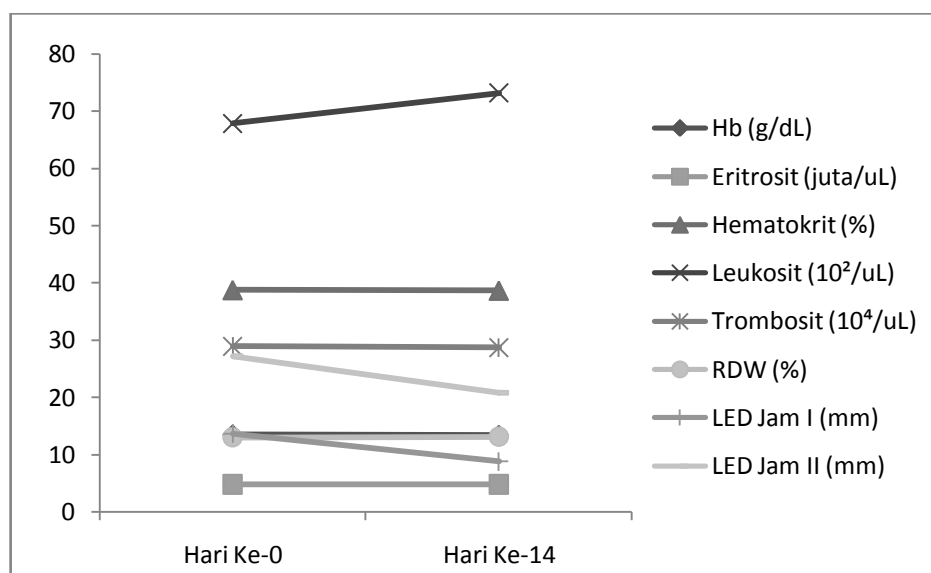
Kode Sampel	Pemeriksaan Hari Ke-0															
	Hb (g/dL)	Eritrosit (juta/uL)	Hematokrit (%)	Leukosit ($10^2/uL$)	Trombosit ($10^4/uL$)	Hitung Jenis					MCV (fl)	MCH (pg)	MCHC (g/dL)	RDW (%)	LED (mm)	
						Limfosit (%)	Monosit (%)	Neutrofil (%)	Eosinofil (%)	Basofil (%)					Jam I	Jam II
P-1a	13.1	4.54	39.1	79.8	27	39	5	55	1	0	86.1	28.9	33.5	12.7	4	10
P-2a	13.8	4.85	39.1	60.7	27	44	7	46	3	0	80.6	28.2	35.0	12.8	10	23
P-3a	13.4	4.43	39.2	68.5	25	37	5	56	2	0	88.5	30.2	34.2	12.4	25	44
P-4a	13.0	4.72	37.9	55.6	25	32	5	62	1	0	80.3	27.5	34.3	13.5	18	34
P-5a	14.1	4.71	40.2	55.2	21	35	8	56	1	0	85.4	29.9	35.1	12.1	7	16
P-6a	14.2	4.75	38.5	76.2	37	37	5	56	2	0	80.6	29.9	37.1	12.5	16	33
P-7a	13.2	4.83	37.9	76.2	32	45	9	38	8	0	78.5	27.3	34.8	14.3	25	44
P-8a	12.7	5.42	36.8	69.4	39	25	6	67	2	0	67.9	23.4	34.5	14.3	12	25
P-9a	14.0	4.82	40.3	60.0	29	37	7	46	10	0	83.6	29.0	34.7	12.5	12	25
P-10a	13.7	5.12	38.9	77.2	28	24	7	66	3	0	76.0	26.8	35.2	13.2	8	18
Rata-rata	13.52	4.82	38.79	67.88	28.95	35.5	6.40	54.8	3.30	0	80.75	28.11	34.84	13.03	13.70	27.20
SD	0.51	0.28	1.07	9.40	5.55	6.96	1.43	9.24	3.13	0.00	5.88	2.03	0.94	0.78	7.23	11.44

Tabel 18. Nilai parameter hematologi darah relawan sehat perempuan hari ke-14 pemberian kapsul ekstrak etanol akar pasak bumi

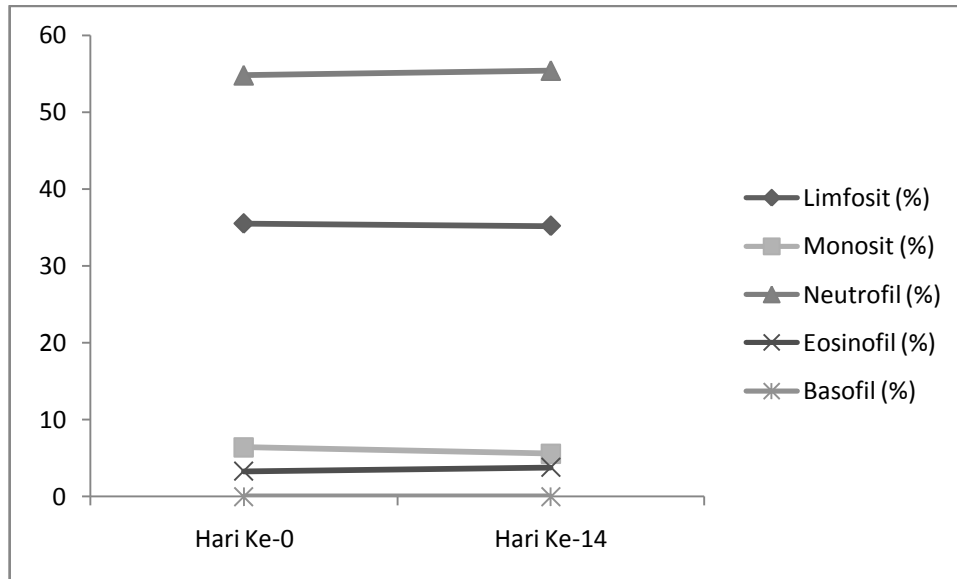
Kode Sampel	Pemeriksaan Hari ke-14															
	Hb (g/dL)	Eritrosit (juta/uL)	Hematokrit (%)	Leukosit (10^2 /uL)	Trombosit (10^4 /uL)	Hitung Jenis					MCV (fl)	MCH (pg)	MCHC (g/dL)	RDW (%)	LED (mm)	
						Limfosit (%)	Monosit (%)	Neutrofil (%)	Eosinofil (%)	Basofil (%)					Jam I	Jam II
P-1a	13.6	4.62	40.3	79.8	24.4	31	5	62	2	0	87.2	29.4	33.7	12.6	3	8
P-2a	14.0	4.96	40.4	57.9	26.2	43	6	46	5	0	81.5	28.2	34.7	12.9	6	14
P-3a	13.7	4.48	39.9	65.6	23.2	36	5	57	2	0	89.1	30.6	34.3	12.6	10	27
P-4a	12.0	4.31	35.6	69.7	24.0	33	8	59	0	0	82.6	27.8	33.7	13.5	14	30
P-5a	14.0	4.61	39.2	41.6	21.1	41	7	50	2	0	85.0	30.4	35.7	12.6	6	17
P-6a	13.8	4.62	38.1	84.7	39.2	42	4	52	2	0	82.5	29.9	36.2	12.3	9	25
P-7a	13.3	4.88	38.3	100.1	34.5	40	6	48	6	0	78.5	27.3	34.7	14.5	19	36
P-8a	13.1	5.55	38.1	82.3	38.4	22	6	70	2	0	68.6	23.6	34.4	14.2	5	15
P-9a	13.5	4.59	38.8	69.3	29.7	46	5	36	13	0	84.5	29.4	34.8	12.7	9	19
P-10a	13.3	5.08	38.3	80.5	26.2	18	4	74	4	0	75.4	26.2	34.7	13.3	7	17
Rata-rata	13.43	4.77	38.7	73.15	28.69	35.2	5.6	55.4	3.8	0	81.49	28.28	34.69	13.12	8.8	20.8
SD	0.59	0.36	1.41	16.17	6.50	9.27	1.26	11.44	3.68	0.00	6.02	2.17	0.78	0.74	4.71	8.48

Tabel 19. Perbandingan Nilai Rata-rata Hematologi Darah Relawan sehat Perempuan Pada Hari ke-0 dan Hari ke-14

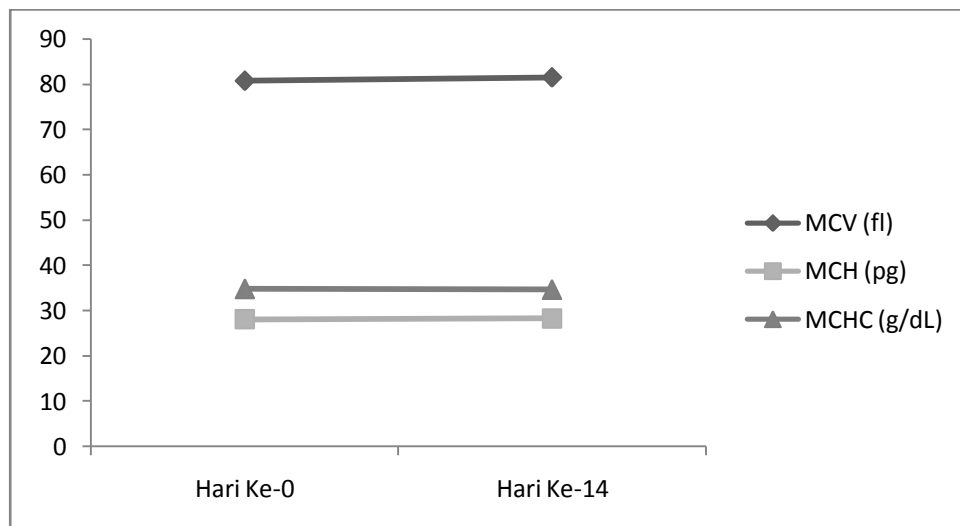
Parameter	Mean±SD		P
	Hari Ke-0	Hari Ke-14	
Hb (g/dL)	13,52±0,51	13,43±0,59	0,645
Eritrosit (juta/uL)	4,82±0,28	4,77±0,36	0,391
Hematokrit (%)	38,79±1,07	38,7±1,41	0,827
Leukosit (10^2 /uL)	67,88±9,40	73,15±16,17	0,154
Trombosit (10^4 /uL)	80,75±5,88	81,49±6,02	0,032
Limfosit (%)	28,11±2,09	28,28±2,17	0,145
Monosit (%)	34,84±0,94	34,69±0,78	0,307
Neutrofil (%)	13,03±0,78	13,12±0,74	0,193
Eosinofil (%)	28,95±5,55	28,69±6,50	0,577
Basofil (%)	35,5±6,96	35,20±9,27	0,868
MCV (fl)	6,40±1,43	5,60±1,26	0,182
MCH (pg)	54,80±9,24	55,4±11,44	0,777
MCHC (g/dL)	3,30±3,13	3,80±3,68	0,301
RDW (%)	0±0	0±0	0
LED Jam I (mm)	13,70±0,78	8,80±4,71	0,005
LED Jam II (mm)	27,20±11,44	20,80±8,48	0,004



Gambar 14. Diagram Perbedaan Nilai Hemoglobin, Eritrosit, Hematokrit, Leukosit, Trombosit, RDW, LED jam I dan LED jam II Pada Relawan sehat Perempuan Hari Ke-0 dan Hari Ke-14 Pemberian Kapsul Ekstrak Etanol Akar Pasak Bumi



Gambar 15. Diagram Perbedaan Limfosit, Monosit, Neutrofil, Eosinofil dan Basofil Pada Relawan sehat Perempuan Hari Ke-0 dan Hari Ke-14 Pemberian Kapsul Ekstrak Etanol Akar Pasak Bumi



Gambar 16. Diagram Perbedaan MCV, MCH dan MCHC Pada Relawan sehat Perempuan Hari Ke-0 dan Hari Ke-14 Pemberian Kapsul Ekstrak Etanol Akar Pasak Bumi

Hasil uji statistik terlihat pada tabel 16 dan tabel 19 menunjukkan nilai parameter hematologi darah pada relawan sehat laki-laki menunjukkan tidak ada perbedaan statistik ($p > 0,05$) antara sebelum dan setelah pemberian kapsul ekstrak

etanol akar pasak bumi, tetapi pada relawan sehat perempuan adanya perbedaan tidak bermakna pada parameter MCV dan LED jam I dan jam II antara sebelum dan setelah pemberian kapsul ekstrak etanol akar pasak bumi.

Mean Corpuscular Volume (MCV) atau Volume Eritrosit Rata-rata, yaitu indeks untuk menentukan ukuran sel darah merah. MCV menunjukkan ukuran sel darah merah tunggal (Cahyo, 2013). Penurunan nilai MCV terlihat pada pasien anemia kekurangan besi, anemia pernisiiosa dan talasemia, disebut juga anemia mikrositik. Sedangkan, Peningkatan nilai MCV terlihat pada penyakit hati, alcoholism, terapi antimetabolik, kekurangan folat/vitamin B12, dan terapi valproat, disebut juga anemia makrositik (Kemenkes, 2011).

Nilai Laju Endap Darah (LED) merupakan indikator yang peka terhadap suatu perubahan yang terjadi pada sistem imun. Pemeriksaan LED biasanya digunakan untuk memonitor suatu penyakit yang dicurigai akut dan kronis parah. Ketika terjadinya suatu infeksi maka nilai LED akan naik, sedangkan jika tidak terdapat suatu infeksi yang parah maka nilai LED akan turun atau normal (Brigden, 2005).

Hasil penelitian menunjukkan bahwa, pemberian kapsul ekstrak etanol akar pasak bumi selama 14 hari tidak mempengaruhi hematologi darah pada relawan sehat laki-laki, tetapi berpengaruh tidak signifikan pada relawan sehat perempuan pada parameter MCV dan LED jam I dan jam II karena nilai dari parameter tersebut masih dalam batas normal. Hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan Henkel (2013), pemberian kapsul akar pasak bumi tidak berpengaruh pada parameter hematologi darah. Penelitian yang sama juga

diperoleh dalam penelitian Muhamad *et al.*, (2010) dan Ooi *et al.*, (2003), tetapi tidak sesuai dengan parameter MCV dan dan LED jam I dan jam II pada relawan sehat perempuan dalam penelitian ini.

5.5.3 Profil Fungsi hati

Serum Glutamic Pyruvic Transaminase (SGPT) adalah pertanda yang paling sering digunakan pada toksisitas hati. SGPT merupakan suatu enzim organ hati yang berperan penting dalam metabolisme asam amino dan glukoneogenesis. Peningkatan kadar enzim terjadi pada kerusakan hati. Pengukuran kadar enzim ini merupakan tes yang lebih spesifik untuk mendeteksi kelainan hati karena terutama ditemukan dalam organ hati. Enzim ini juga ditemukan pada otot skelet dan jantung, namun aktifitasnya lebih rendah. Enzim ini mendeteksi nekrosis sel hati. (Singh, 2011 :Boyer, 2012)

Serum Glutamic Oxaloacetate Transaminase (SGOT) adalah enzim hepar yang membantu produksi protein. Kerusakan pada salah satu dari beberapa organ tersebut bisa menyebabkan peningkatan kadar pada enzim dalam darah. Enzim ini juga membantu dalam mendeteksi nekrosis sel hepar, tapi dianggap petanda yang kurang spesifik untuk kerusakan sel hepar sebab enzim ini juga bisa menggambarkan kelainan pada jantung, otot rangka, otak, dan ginjal (Singh, 2011 :Boyer, 2012).

Hasil pemeriksaan fungsi hati relawan sehat meliputi nilai SGOT, SGPT dan bilirubin total, direk, dan indirek, pada 10 relawan sehat perempuan dan 10

relawan sehat laki-laki dapat dilihat masing-masing pada Tabel 20, Tabel 21 dan Tabel 22, Tabel 23.

Tabel 20. Hasil pemeriksaan fungsi hati pada relawan sehat perempuan hari ke-0 pemberian kapsul ekstrak etanol akar pasak bumi.

Kode sampel	Hari ke 0					
	SGOT (U/L)	SGPT (U/L)	Bilirubin			Total Protein (g/dL)
			Total (mg/dL)	Direk (mg/dL)	Indirek (mg/dL)	
P-1a	18,1	11,0	0,65	0,23	0,42	7,03
P-2a	21,1	14,6	0,57	0,25	0,32	7,40
P-3a	15,0	12,8	1,53	0,52	1,01	7,27
P-4a	20,0	18,7	0,65	0,24	0,41	7,46
P-5a	16,5	13,7	0,46	0,21	0,25	6,83
P-6a	14,1	8,8	0,46	0,20	0,38	7,95
P-7a	16,3	9,6	0,31	0,10	0,21	7,59
P-8a	11,4	7,0	0,59	0,22	0,37	7,41
P-9a	13,8	11,7	0,80	0,31	0,49	7,20
P-10a	16,5	11,0	0,98	0,32	0,66	8,13
Rata-rata	16,28	11,89	0,70	0,26	0,45	7,43
SD	2,92	3,30	0,35	0,11	0,23	0,39

Tabel 21. Hasil pemeriksaan fungsi hati pada relawan sehat perempuan hari ke-0 pemberian kapsul ekstrak etanol akar pasak bumi.

Kode sampel	Hari ke 14					
	SGOT (U/L)	SGPT (U/L)	Bilirubin			Total Protein (g/dL)
			Total (mg/dL)	Direk (mg/dL)	Indirek (mg/dL)	
P-1a	16,1	8,0	0,78	0,28	0,50	6,74
P-2a	14,0	11,6	0,61	0,27	0,34	7,06
P-3a	15,1	11,2	0,88	0,32	0,56	7,48
P-4a	11,1	8,9	0,77	0,29	0,48	6,80
P-5a	17,3	10,6	0,43	0,16	0,27	6,83
P-6a	12,0	8,8	0,44	0,12	0,32	7,56
P-7a	18,9	22,9	0,55	0,16	0,39	7,57
P-8a	9,7	7,4	0,51	0,20	0,31	7,27
P-9a	12,2	9,4	0,59	0,22	0,37	6,29
P-10a	14,5	10,8	0,81	0,29	0,52	7,59
Rata-rata	14,09	10,96	0,64	0,23	0,41	7,12
SD	2,88	4,42	0,16	0,07	0,10	0,45

Tabel 22. Hasil pemeriksaan fungsi hati pada relawan sehat laki-laki hari ke-0 dan hari ke-14 pemberian kapsul ekstrak akar pasak bumi

Kode sampel	Hari ke 0					
	SGOT (U/L)	SGPT (U/L)	Bilirubin			Total Protein (g/dL)
			Total (mg/dL)	Direk (mg/dL)	Indirek (mg/dL)	
P-1a	16,1	18,2	0,88	0,28	0,60	7,28
P-2a	24,0	23,1	0,70	0,24	0,46	8,59
P-3a	27,3	37,7	0,90	0,29	0,61	7,59
P-4a	39,5	37,1	0,68	0,23	0,45	7,99
P-5a	16,9	20,1	0,84	0,30	0,54	8,16
P-6a	16,3	16,0	0,57	0,2	0,37	7,38
P-7a	20,1	26,2	0,80	0,28	0,52	7,53
P-8a	18,1	11,6	0,74	0,22	0,52	8,64
P-9a	20,6	19,3	1,24	0,41	0,83	7,41
P-10a	13,6	11,8	0,86	0,31	0,55	7,43
Rata-rata	21,25	22,11	0,82	0,28	0,55	7,80
SD	7,58	9,23	0,18	0,06	0,12	0,51

Tabel 23. Hasil pemeriksaan fungsi hati pada relawan sehat laki-laki hari ke-0 dan hari ke-14 pemberian kapsul ekstrak akar pasak bumi

Kode sampel	Hari ke 14					
	SGOT (U/L)	SGPT (U/L)	Bilirubin			Total Protein (g/dL)
			Total (mg/dL)	Direk (mg/dL)	Indirek (mg/dL)	
P-1a	16,6	26,7	1,17	0,37	0,80	7,53
P-2a	28,4	30,4	0,55	0,16	0,39	8,00
P-3a	24,2	31,0	1,04	0,35	0,69	7,66
P-4a	36,2	36,0	0,80	0,26	0,54	7,89
P-5a	16,0	20,6	0,59	0,20	0,39	7,75
P-6a	14,2	13,2	0,93	0,34	0,59	7,29
P-7a	15,6	22,3	0,86	0,30	0,56	7,53
P-8a	15,3	13,3	0,93	0,33	0,60	7,93
P-9a	22,2	22,4	1,78	0,54	1,24	7,45
P-10a	11,8	11,2	0,82	0,27	0,55	7,37
Rata-rata	20,05	22,71	0,95	0,31	0,64	7,64
SD	7,64	8,41	0,35	0,10	0,25	0,25

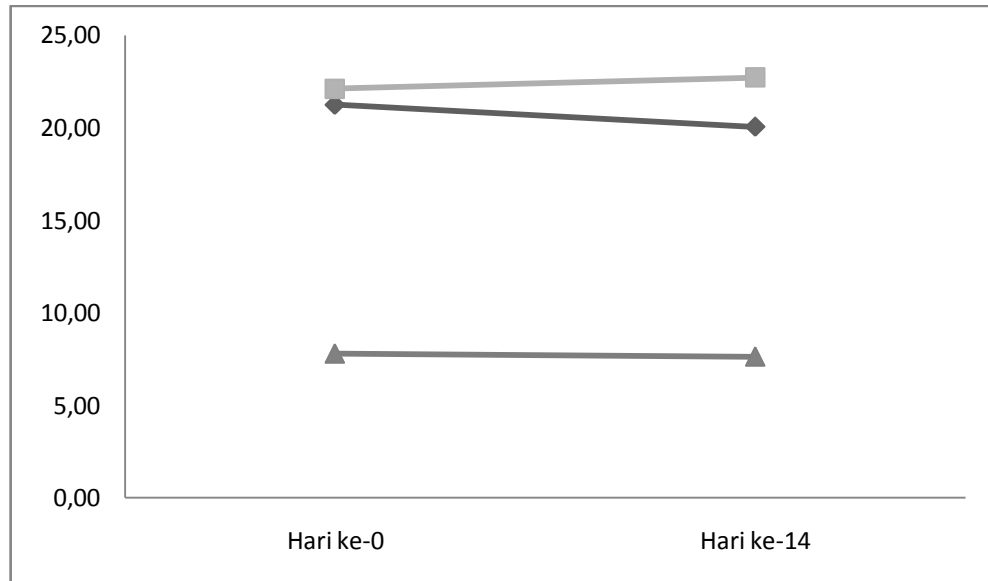
Setelah mengkonsumsi kapsul ekstrak akar pasak bumi selama 14 hari maka dilakukan pengambilan darah kembali untuk mengetahui pengaruh terhadap fungsi hati (SGOT, SGPT, & bilirubin) dan profil lemak pada relawan sehat. Pemeriksaan ini perlu dilakukan karena jika adanya peningkatan diatas normal pada nilai parameter fungsi hati atau enzim-enzim hati dalam darah meningkat, maka mencerminkan adanya kerusakan organ hati (Buraimoh *et al.*, 2011; Domitrović *et al.*, 2011).

5.5.3.1 Pemeriksaan SGOT/SGPT

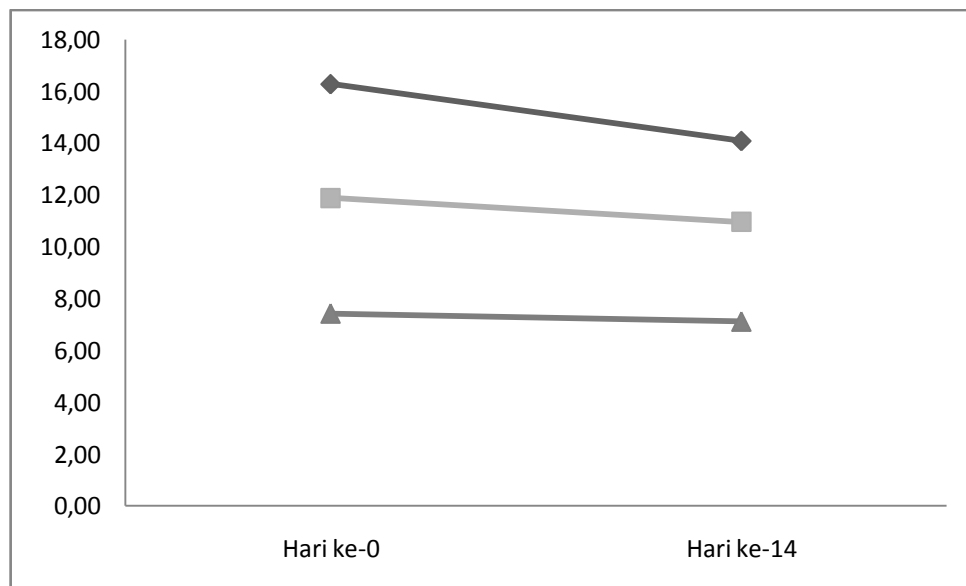
Hasil pemeriksaan fungsi hati relawan sehat meliputi nilai SGOT, SGPT dan total protein pada relawan sehat perempuan dan relawan sehat laki-laki dapat Dilihat pada Tabel 24. Grafik perbedaan antara sebelum dan sesudah mengkonsumsi kapsul ekstrak akar pasak bumi dapat Dilihat pada Gambar 17 dan Gambar 18.

Tabel 24. Perbandingan nilai SGOT dan SGPT hari ke-0 dan hari ke-14 pemberian kapsul ekstrak etanol akar pasak bumi

Parameter	Hari ke-0	Hari ke-14	Sig.
Laki-laki			
SGOT (U/L)	21,25 ± 7,58	20,05 ± 7,64	0,191
SGPT (U/L)	22,11 ± 9,23	22,71 ± 8,41	0,700
Total Protein	7,80 ± 0,51	7,64 ± 0,25	0,135
Perempuan			
SGOT (U/L)	16,28 ± 2,92	14,09 ± 2,88	0,075
SGPT (U/L)	11,89 ± 3,30	10,96 ± 4,42	0,646
Total Protein	7,43 ± 0,39	7,12 ± 0,45	0,018



Gambar 17. Perbedaan nilai SGOT/SGPT dan Total Protein pada relawan sehat laki-laki hari ke-0 dan hari ke-14 setelah pemberian kapsul ekstrak etanol akar pasak bumi



Gambar 18. Perbedaan nilai SGOT/SGPT dan Total Protein pada relawan sehat perempuan hari ke-0 dan hari ke-14 setelah pemberian kapsul ekstrak etanol akar pasak bumi

Serum transaminase adalah indikator yang peka pada kerusakan sel-sel hati. SGPT adalah enzim mikrosomal, sedangkan SGOT adalah enzim sitosolik. Kenaikan enzim-enzim tersebut meliputi kerusakan sel-sel hati oleh karena virus, obat-obatan atau toksin yang menyebabkan hepatitis, karsinoma metastatik, kegagalan jantung dan penyakit hati granulomatus dan yang disebabkan oleh alkohol. Kenaikan kembali atau bertahannya nilai transaminase yang tinggi biasanya menunjukkan berkembangnya kelainan dan nekrosis hati. Meningkatnya kadar enzim-enzim hati di dalam darah mencerminkan tingkat kerusakan organ hati (Buraimoh *et al.*, 2011; Domitrović *et al.*, 2011).

Akar pasak bumi sendiri memberikan efek yang tidak buruk bagi organ tubuh manusia khususnya hati dan ginjal, seperti dilaporkan bahwa pemberian sediaan akar pasak bumi pada tikus jantan tidak memengaruhi fungsi hati (Panjaitan *et al.*, 2011). Serbuk akar pasak bumi dan *Curcumin* secara signifikan juga dapat menurunkan aktivitas SGPT dan SGOT terhadap tikus jantan. Hasil penelitian menunjukkan bahwa serbuk akar pasak bumi mempunyai efek hepatoprotektif (Adikusuma, 2014).

Hasil uji toksisitas akut maupun subkronik serbuk akar pasak bumi tidak toksik pada hati maupun ginjal (Ching, 2013), disebutkan pula bahwa penggunaan akar pasak bumi setiap hari tidak membawa perubahan pada fungsi liver dan ginjal, Harga LD₅₀ dari ekstrak alkoholik akar pasak bumi sebesar 1500-2000 mg/kg. LD₅₀ ekstrak air akar pasak bumi berkisar pada 3000mg/kg (Rehman *et al* 2016). Diharapkan akar pasak bumi relatif aman baik digunakan pada pria ataupun wanita dan tidak mempeengaruhi toksik keadaan atau fungsi organ dalam tubuh.

Gambar 17 dan Gambar 18 menunjukkan adanya perbedaan nilai SGOT/ SGPT pada hari ke-0 dan Hari ke-14, perbedaan tersebut ialah menurunnya kadar nilai SGOT dan meningkatnya nilai SGPT relawan sehat laki-laki pada hari ke-14 setelah diminumnya kapsul ekstrak akar pasak bumi. Perbedaan ini merupakan perbedaan yang tidak signifikan ditunjukkan pada hasil analisis *paired sample T-test*. Hal ini memperkuat bukti-bukti ilmiah yang telah ada yang mengatakan bahwa kapsul akar pasak bumi tidak memiliki efek samping terhadap organ hati dan memiliki potensi sebagai hepatoprotektif. Penurunan nilai SGOT dan SGPT ini dikarenakan akar pasak bumi dapat mengurangi pelepasan SGOT dan SGPT ke dalam darah (Adikusuma *et al*, 2014). Akar pasak bumi juga dapat menekan sintesis enzim GOT dan GPT (Al-Faqeh *et al*, 2010).

Hal ini memperkuat bukti-bukti ilmiah yang telah ada, yang mengatakan bahwa kapsul akar pasak bumi tidak memiliki efek samping terhadap organ hati dan memiliki potensi sebagai hepatoprotektif (Adikusuma *et al*, 2014).

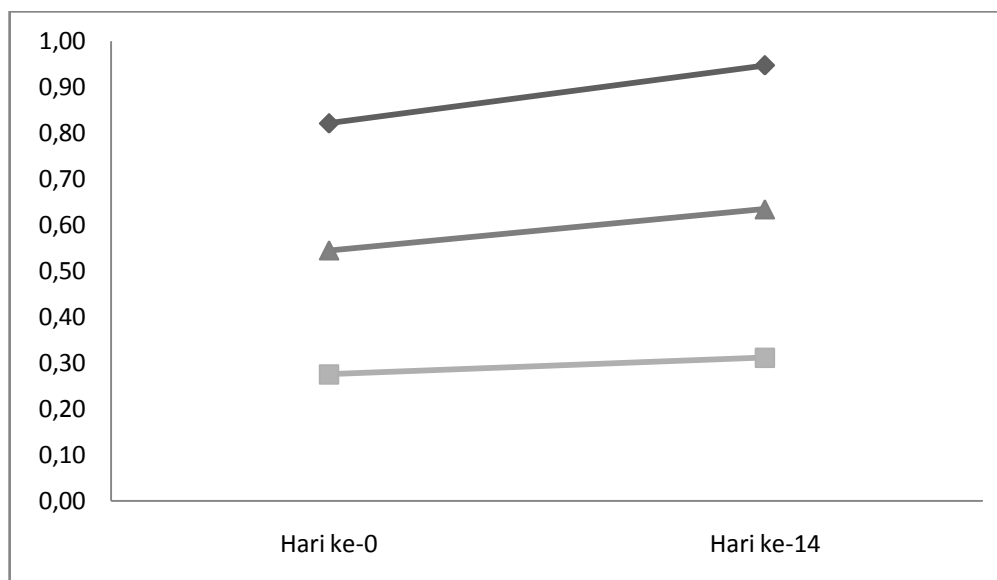
5.5.3.2. Pemeriksaan Bilirubin

Bilirubin merupakan salah satu produk yang dihasilkan dari pemecahan hemoglobin. Ketika sel darah merah dirusak hasil pecahannya yakni hemoglobin masuk ke sirkulasi darah dan membelah menjadi dua heme dan globin. Tubuh mampu mempertahankan keseimbangan pada kondisi normal antara perusakan sel darah merah, penggunaan dan eksresi produk dari perusakan sel darah merah tersebut. Akan tetapi ketika keseimbangan ini terganggu akibat immaturitas sel darah merah dan fungsi hati dapat menyebabkan bilirubin terakumulasi dan menimbulkan *jaundice* (Hockenberry & Wilson, 2007).

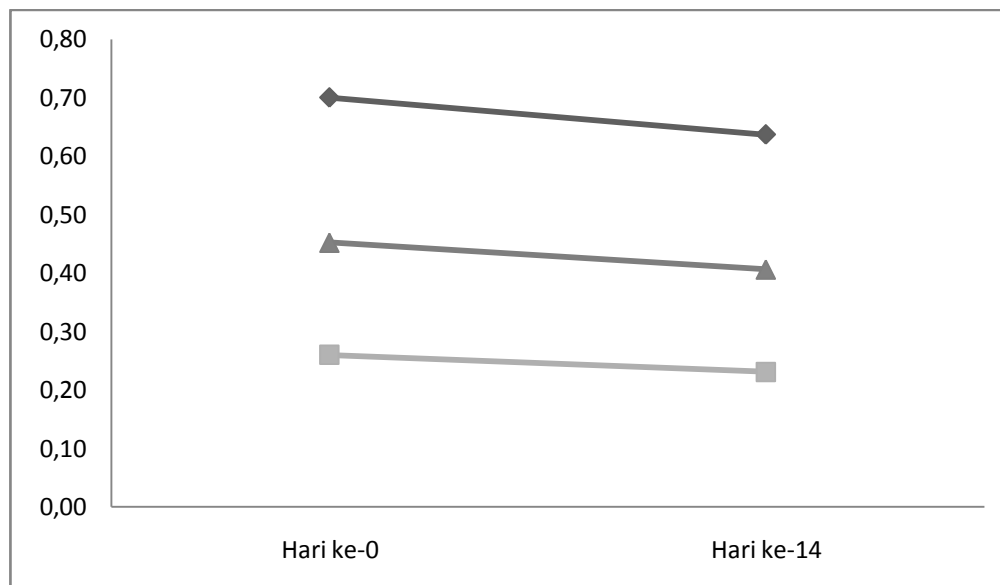
Hasil pemeriksaan fungsi hati relawan sehat meliputi nilai bilirubin pada relawan sehat perempuan dan relawan sehat laki-laki pada hari ke-0 dan hari ke-14 dapat dilihat pada Tabel 25. Grafik perbedaan nilai bilirubin antara sebelum dan sesudah mengkonsumsi kapsul ekstrak akar pasak bumi dapat Dilihat pada Gambar 19 dan Gambar 20.

Tabel 25. Perbandingan nilai Bilirubin hari ke-0 dan hari ke-14 pemberian kapsul ekstrak etanol akar pasak bumi

Parameter (mg/dL)	Hari ke-0	Hari ke-14	Sig.
Laki-laki			
Bil. Total	0,82 ± 0,18	0,95 ± 0,35	0,127
Bil. Direk	0,28 ± 0,06	0,31 ± 0,10	0,218
Bil. Indirek	0,55 ± 0,12	0,64 ± 0,25	0,086
Perempuan			
Bil. Total	0,70 ± 0,35	0,64 ± 0,16	0,443
Bil. Direk	0,26 ± 0,11	0,23 ± 0,77	0,286
Bil. Indirek	0,45 ± 0,23	0,41 ± 0,10	0,173



Gambar 19. Perbedaan nilai Bilirubin relawan sehat laki-laki hari ke-0 dan hari ke-14 pemberian kapsul ekstrak etanol akar pasak bumi



Gambar 20. Perbedaan nilai Bilirubin relawan sehat perempuan hari ke-0 dan hari ke-14 pemberian kapsul ekstrak etanol akar pasak bumi

Pengaruh akar pasak bumi terhadap fungsi liver khususnya pada parameter bilirubin memang telah banyak diteliti baik pada hewan uji maupun pada manusia sehat maupun sakit. Diantaranya menyatakan bahwa akar pasak bumi tidak mempengaruhi kadar bilirubin dalam tubuh baik dalam pemberian dosis berapapun pada hewan uji tikus (Faqeh, *et al.*, 2010).

Hasil pemeriksaan pada Gambar 19 dan Gambar 20 menunjukkan adanya perbedaan nilai bilirubin pada hari ke-0 dan hari ke-14. Nilai bilirubin meningkat pada Gambar 19, namun masih dalam nilai normal kemudian uji statistika juga menunjukkan tidak adanya perbedaan yang signifikan antara hari ke-0 dan hari ke-14. Nilai bilirubin menurun dilihat pada Gambar 20, penurunan nilai ini terjadi pada hari ke-14. Hal ini dapat dikarenakan efek akar pasak bumi sebagai hepatoprotektif yang dapat melindungi sel hati sehingga tidak mengganggu

sirkulasi bilirubin yang melewati hati dan tidak meningkatkan kadar enzim-enzim hati lainnya yang dapat diartikan sebagai kerusakan hati (Panjaitan *et al*, 2011).

Hasil pemeriksaan pada Gambar 20 juga menunjukkan adanya perubahan nilai bilirubin pada hari ke-0 dan hari ke-14, dimana nilai bilirubin menurun pada hari ke-14. Hal ini dapat dikarenakan efek akar pasak bumi sebagai hepatoprotektif yang dapat melindungi sel hati sehingga tidak mengganggu sirkulasi bilirubin yang melewati hati dan tidak meningkatkan kadar enzim-enzim hati lainnya yang dapat diartikan sebagai kerusakan hati (Panjaitan *et al*, 2011). Sehingga hal ini menunjukkan bahwa akar pasak bumi tidak berpengaruh pada fungsi hati relawan sehat dilihat dari nilai bilirubinnya.

5.5.4 Profil Lemak

Profil lemak digunakan untuk menilai gambaran risiko penyakit jantung atau stroke yang disebabkan oleh penyumbatan pembuluh darah, serta membantu dokter untuk keputusan tentang tindakan medis terbaik yang perlu dilakukan (Sadikin, 2013). Pemantauan dan menjaga kadar lemak pada level yang sehat sangat penting dalam menjaga kesehatan. Profil Lemak darah terdiri dari kolesterol total, HDL kolesterol, LDL kolesterol dan trigliserida (Anwar, 2014).

LDL (*Low Density Lipoprotein*) kolesterol merupakan jenis kolesterol yang bersifat buruk atau merugikan (*bad cholesterol*) (Anwar, 2004). Kadar LDL yang tinggi akan menyebabkan kolesterol lebih banyak melekat pada dinding-dinding pembuluh darah pada saat transportasi dilakukan. Kolesterol yang melekat itu perlahan-lahan akan mudah membentuk tumpukan-tumpukan yang mengendap, seperti plak pada dinding-dinding pembuluh darah. Akibatnya

saluran darah terganggu dan ini bisa meningkatkan resiko penyakit pada tubuh seseorang seperti stroke, jantung koroner, dan lain sebagainya (Graha, 2010).

Trigliserida adalah salah satu jenis lemak yang terdapat dalam darah dan berbagai organ dalam tubuh. Trigliserida merupakan lemak di dalam tubuh yang terdiri dari 3 jenis lemak, yaitu lemak jenuh, lemak tidak jenuh tunggal dan lemak tidak jenuh ganda. Trigliserida dalam tubuh digunakan untuk menyediakan energi berbagai proses metabolisme. Trigliserida mempunyai peranan yang hampir sama dengan karbohidrat, yaitu memberi energi untuk tubuh (Guyton & Hall, 2007).

Hasil pemeriksaan profil lemak relawan sehat meliputi kolesterol, trigliserida, HDL dan LDL, dengan hasil pemeriksaan pada 10 orang relawan sehat perempuan pada Tabel 26 dan Tabel 27 dan 10 orang relawan sehat laki-laki pada Tabel 28 dan Tabel 29.

Tabel 26. Hasil pemeriksaan profil lemak pada relawan sehat perempuan hari ke-0

Kode sampel (Pr)	Hari ke 0				
	Kolesterol Total (mg/dL)	Trigliserida (mg/dL)	HDL (mg/dL)	LDL (mg/dL)	Rasio HDL/LDL
P-1a	204	140	73	74	1,0
P-2a	107	44	48	44	0,9
P-3a	185	80	63	105	1,7
P-4a	189	51	50	129	2,6
P-5a	223	104	68	103	1,9
P-6a	190	99	45	128	2,8
P-7a	180	63	46	119	2,6
P-8a	154	74	43	100	2,3
P-9a	153	46	58	82	1,4
P-10a	190	77	56	108	1,9
rata-rata	177,5	77,8	55	99,2	1,91
SD	32,322	30,029	10,360	26,275	0,671

Tabel 27. Hasil pemeriksaan profil lemak pada relawan sehat perempuan hari ke-14 pemberian kapsul ekstrak etanol akar pasak bumi

Kode sampel (Pr)	Hari ke 14				
	Kolesterol Total (mg/dL)	Trigliserida (mg/dL)	HDL (mg/dL)	LDL (mg/dL)	Rasio HDL/LDL
P-1a	181	126	70	57	0,8
P-2a	125	56	50	60	1,2
P-3a	201	57	69	115	1,7
P-4a	188	66	46	118	2,6
P-5a	237	74	64	148	2,3
P-6a	199	124	48	133	2,8
P-7a	196	98	51	129	2,5
P-8a	163	70	47	106	2,3
P-9a	147	57	58	76	1,3
P-10a	161	71	50	88	1,8
rata-rata	179,80	79,90	55,30	103,00	1,93
SD	31,86	26,71	9,25	31,44	0,67

Tabel 28. Hasil pemeriksaan profil lemak pada relawan sehat laki-laki hari ke-0 pemberian kapsul ekstrak etanol akar pasak bumi

Kode sampel (Lk)	Hari ke 0				
	Kolesterol Total (mg/dL)	Trigliserida (mg/dL)	HDL (mg/dL)	LDL (mg/dL)	Rasio HDL/LDL
P-1a	170	154	34	111	3,3
P-2a	218	55	47	150	3,2
P-3a	216	96	63	141	2,1
P-4a	179	101	33	119	3,6
P-5a	172	102	67	88	1,3
P-6a	195	89	54	121	2,2
P-7a	185	92	56	106	1,9
P-8a	174	131	43	107	2,5
P-9a	167	105	34	118	3,5
P-10a	158	82	43	103	2,4
rata-rata	183,4	100,7	47,4	116,4	2,6
SD	20,354	26,775	12,249	18,185	0,767

Tabel 29. Hasil pemeriksaan profil lemak pada relawan sehat laki-laki hari ke-14 pemberian kapsul ekstrak etanol akar pasak bumi

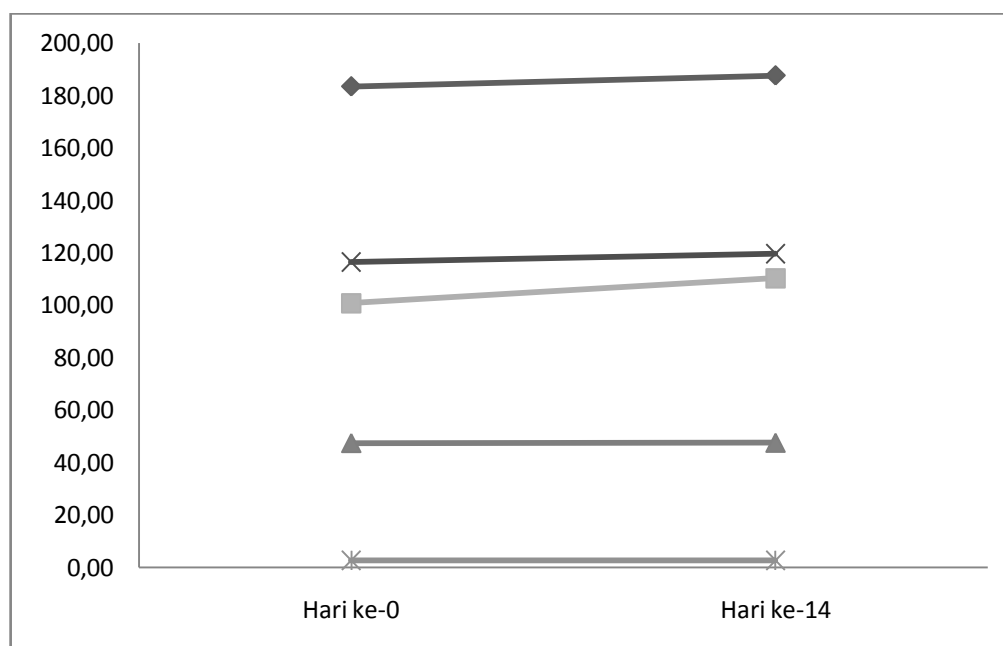
Kode sampel (Lk)	Hari ke 14				
	Kolesterol Total (mg/dL)	Trigliserida (mg/dL)	HDL (mg/dL)	LDL (mg/dL)	Rasio HDL/LDL
P-1a	192	170	38	125	3,3
P-2a	226	95	46	155	3,4
P-3a	220	154	60	135	2,3
P-4a	204	114	36	139	3,9
P-5a	171	105	61	92	1,5
P-6a	196	73	52	128	2,5
P-7a	170	98	51	100	2,0
P-8a	151	85	44	90	2,0
P-9a	182	100	47	125	2,7
P-10a	164	109	40	107	2,7
rata-rata	187,60	110,30	47,50	119,60	2,63
SD	24,49	29,89	8,59	21,54	0,73

5.5.4.1. Pemeriksaan Profil Lemak

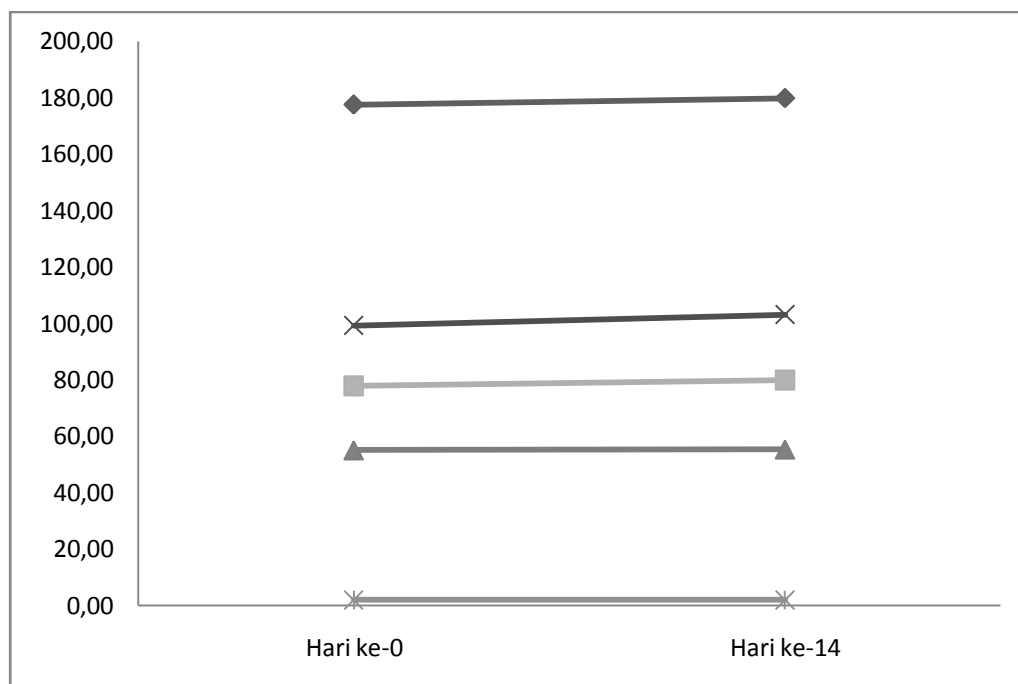
Pasak bumi dilaporkan dapat meningkatkan jumlah masa lemak bebas dan dapat meningkatkan kekuatan otot dan tidak meningkatkan kadar lemak tubuh pada laki-laki (Hamzah, *et al.*, 2008). Hasil perbandingan profil lemak pada relawan sehat hari ke-0 dan hari ke-14 dapat dilihat pada Tabel 30. Perbandingan nilai profil lemak pada hari ke-0 dan hari ke-14 dapat dilihat pada Gambar 21 dan Gambar 22.

Tabel 30. Perbandingan nilai profil lemak relawan sehat pada hari ke-0 dan hari ke-14 pemberian kapsul ekstrak etanol akar pasak bumi

Parameter (mg/dL)	Hari ke-0	Hari ke-14	Sig.
Laki-laki			
Kol.total	183,40 ± 20,35	187,60 ± 24,49	0,399
Trigliserida	100,70 ± 26,77	110,30 ± 29,89	0,325
HDL	47,40 ± 12,25	47,50 ± 8,59	0,956
LDL	116,40 ± 18,19	119,60 ± 21,54	0,364
Ratio HDL/LDL	2,60 ± 0,77	2,63 ± 0,73	0,807
Perempuan			
Kol.total	177,50 ± 32,32	179,80 ± 31,86	0,676
Trigliserida	77,80 ± 30,03	79,90 ± 26,71	0,381
HDL	55,00 ± 10,36	55,30 ± 9,25	0,442
LDL	99,20 ± 26,28	103,00 ± 31,44	0,542
Ratio HDL/LDL	1,91 ± 0,67	1,93 ± 0,67	0,743



Gambar 21. Perbedaan profil lemak realawan sehat laki-laki hari ke-0 dan hari ke-14 pemberian kapsul ekstrak etanol akar pasak bumi



Gambar 22. Perbedaan profil lemak realawan sehat perempuan hari ke-0 dan hari ke-14 pemberian kapsul ekstrak etanol akar pasak bumi

Meningkatnya kadar kolesterol total, LDL (*Low Density Lipoprotein*) dan rendahnya HDL (*High Density lipoprotein*), merupakan tanda terjadinya sindrom metabolik yang dapat menyebabkan resiko timbulnya penyakit lain meningkat. Pada pria dan perempuan kadar kolesesterol, trigliserida, dan HDL, LDL dapat dipengaruhi oleh adanya hormon esterogen yang dapat melindungi dari resiko terjadinya aterosklerosis dini yang merupakan akibat dari tingginya kadar kolesesterol maupun kadar LDL. Sehingga perbedaan kadar profil lemak antara laki-laki dan perempuan juga dapat dipengaruhi oleh aktivitas yang dilakukan oleh masing masing individu.

Hasil penelitian ini menunjukkan adanya peningkatan pada nilai kolesterol dan LDL sedangkan pada nilai HDL dan trigliserida menunjukkan penurunan nilai dari hari ke-0 dengan nilai pada hari ke-14. Peningkatan kadar LDL ini juga terjadi

pada akar pasak bumi yang diujikan pada hewan uji tikus jalur wistar yang kemudian direkomendasikan untuk melakukan perhitungan dosis yang lebih tepat sehingga tidak mempengaruhi nilai LDL (Faisal *et al.*, 2014).

Hasil penelitian ini menunjukkan adanya peningkatan nilai kolesterol yang tidak signifikan ($p > 0,05$) dan nilai LDL. Hal ini dikarenakan sebagian besar kolesterol dalam darah dibawa oleh protein yang disebut dengan lipoprotein densitas rendah atau LDL. Sehingga didapatkan nilai kolesterol dan LDL yang tinggi, dan mempengaruhi nilai rata-rata profil lemak tubuh. Perubahan ini tidak signifikan dan masih dalam batas normal.

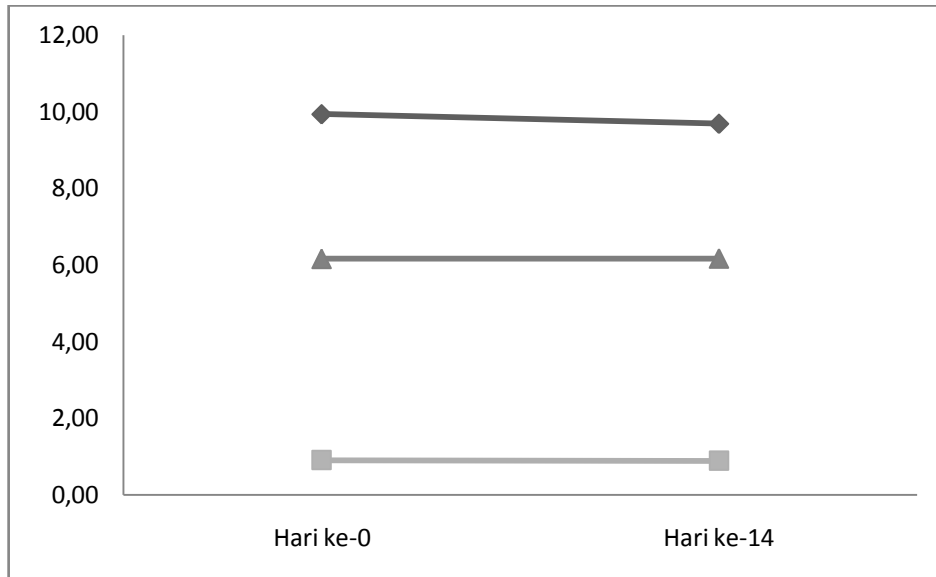
5.5.5.4.2. Fungsi Ginjal

Hasil Pemeriksaan bilirubin dapat disajikan pada Tabel 31, dan grafik perbandingan nilai rata-rata parameter fungsi ginjal yaitu BUN, kreatinin dan asam urat pada hari ke-0 dan hari ke-14 setelah mengkonsumsi kapsul ekstrak akar pasak bumi disajikan pada Gambar 23 dan Gambar 24.

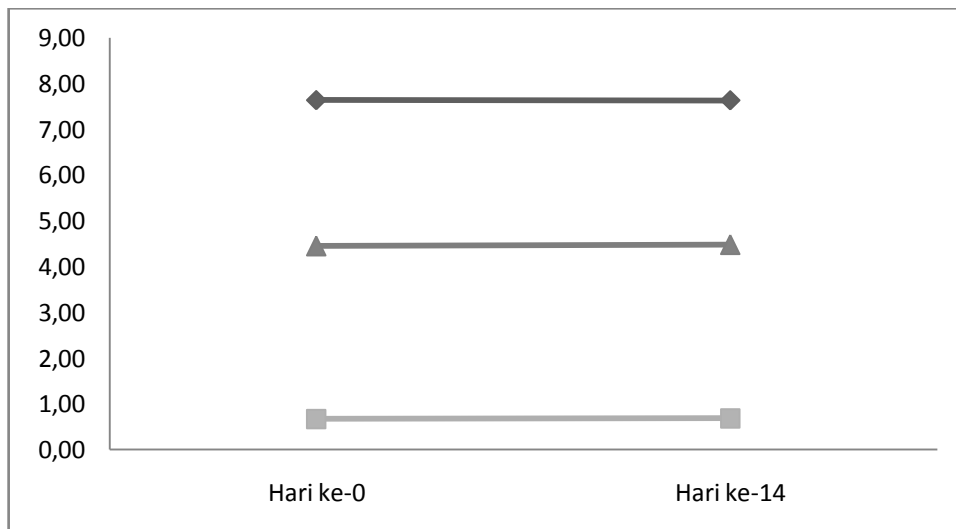
Tabel 31. Perbandingan nilai rata-rata BUN, kreatinin dan asam urat relawan sehat hari ke-0 dan hari ke-14 setelah pemeberian kapsul ekstrak akar pasak bumi

Parameter	Hari ke-0	Hari ke-14	Sig.
Laki-laki			
BUN (mg/dL)	9,94 ± 2,08	9,69 ± 2,34	0,560
Kreatinin (mg/dL)	0,91 ± 0,12	0,89 ± 0,13	0,577
Asam urat (mg/dL)	6,16 ± 1,72	6,17 ± 1,86	0,966
Perempuan			
BUN (mg/dL)	7,63 ± 2,97	7,63 ± 1,85	0,998
Kreatinin (mg/dL)	0,67 ± 0,08	0,68 ± 0,06	0,723
Asam urat (mg/dL)	4,45 ± 1,39	4,48 ± 0,63	0,200

Kreatinin dan BUN merupakan suatu parameter fungsi ginjal. Meningkatnya nilai BUN dan kreatinin dianggap sebagai pertanda terganggunya fungsi ginjal (Ronco, 2015).



Gambar 23. Grafik Perbedaan nilai rata-rata BUN, kreatinin dan asam urat relawan sehat laki-laki pada hari ke-0 dan hari ke-14 setelah mengkonsumsi kapsul ekstrak akar pasak bumi



Gambar 24. Grafik Perbedaan nilai rata-rata BUN, kreatinin dan asam urat relawan sehat perempuan pada hari ke-0 dan hari ke-14 setelah mengkonsumsi kapsul ekstrak akar pasak bumi

Hasil yang diperoleh seperti pada Gambar 23 menunjukkan adanya peningkatan pada nilai rata-rata BUN. Sedangkan pada nilai kreatinin dan asam urat menunjukkan penurunan nilai dari hari ke-0 dengan nilai hari ke-14.

Peningkatan nilai rata-rata BUN ini dapat dikarena beberapa hal. Salah satunya ialah adanya pengaruh dari metabolisme protein yang berlebihan di dalam tubuh oleh karena mengkonsumsi protein dalam jumlah yang cukup tinggi. Nilai ureum akan meningkat seiring dengan memakan makanan yang mengandung protein tinggi (Ronco, 2015). Dan peningkatan nilai rata-rata BUN ini masih dalam *range* normal. Sehingga dapat dikatakan bahwa tidak ada pengaruh terhadap fungsi ginjal baik sebelum maupun sesudah mengkonsumsi kapsul ekstrak akar pasak bumi.

Uji Statistik

Uji awal distribusi normal dilakukan dengan menggunakan uji *Shapiro-Wilk* karena sampel kurang dari 50, dengan taraf kepercayaan 95%. Untuk data yang terdistribusi normal maka dapat dilanjutkan dengan uji *paired sample T-test*. Parameter yang tidak terdistribusi normal maka uji perbandingan rata-rata sebelum dan sesudah pemberian dilanjutkan menggunakan uji *wilcokson*.

Uji perbandingan rata-rata ini menggunakan taraf kepercayaan 95%. H_0 adalah pemberian kapsul ekstrak akar pasak bumi tidak mempengaruhi nilai dari parameter fungsi hati, dan H_a berarti pemberian kapsul ekstrak akar pasak bumi mempengaruhi nilai dari parameter fungsi hati. Jika nilai signifikansi $P > 0,05$ maka H_0 diterima dan jika nilai signifikansi $P < 0,05$ maka H_0 ditolak. Hasil

penelitian ini menunjukkan bahwa nilai signifikansi pada semua parameter fungsi hati, fungsi ginjal dan profil lemak ialah $P>0,05$. Hal ini menunjukkan bahwa pemberian kapsul ekstrak akar pasak bumi selama 14 hari tidak mempengaruhi fungsi hati, fungsi ginjal dan profil lemak tubuh.

BAB 6. KESIMPULAN

1. Formula dengan 300 mg ekstrak kental akar pasak bumi, vivapur 101, amilum maydis, aerosil, avisel, talk, Mg. Stearat menghasilkan kapsul yang memenuhi syarat Farmakope Indonesia III
2. Pemeriksaan *vital sign* terdapat satu parameter yang berbeda bermakna yaitu nilai sistol sehingga kapsul akar pasak bumi mempengaruhi nilai sistol
3. Pemberian kapsul ekstrak etanol akar pasak bumi tidak mempengaruhi terhadap nilai parameter hematologi darah, yaitu hemoglobin, eritrosit, hematokrit, leukosit, trombosit, hitung jenis leukosit (limfosit, monosit, neutrofil, eosinofil, monosit), RDW, Indeks Eritrosit (MCV, MCHC) dan laju endap darah (LED) ($p > 0,05$) pada relawan sehat laki-laki Pemberian kapsul ekstrak etanol akar pasak bumi berpengaruh terhadap nilai MCV dan LED ($p < 0,05$) pada relawan sehat perempuan, tetapi nilai dari parameter tersebut masih dalam batas normal.
4. Pemberian kapsul ekstrak etanol akar pasak bumi tidak mempengaruhi fungsi hati, ginjal maupun profil lemak relawan sehat seha baik perempuan maupun laki-laki.

DAFTAR PUSTAKA

- Adikusuma W, Bachri MS. 2014. Efek Hepatoprotektif Serbuk Akar Pasak Bumi (*Eurycoma longifolia* Jack.) Dilihat Dari Aktivitas Sgpt-Sgot Tikus Jantan Yang Diinduksi CCl₄. *Pharmacia*, Vol. 4, No. 2, 2014: 165-170.
- Al-Faqeh, H.H., Bala Yauri Muhammad,., Emad Mohammed Nafie² And Anuar Khorshid³, 2010, "The Effect Of *Eurycoma Longifolia* Jack (Tongkat Ali) On Carbon Tetrachloride- Induced Liver Damage In Rats", *Malaysian Journal of Pharmaceutical Sciences*, Vol. 8, No. 2, 71–84.
- Anai, S., S. Goodison, K. Shiverick, et al., 2007, Knock-down of Bcl-2 by antisense oligodeoxynucleotides induces radiosensitization and inhibition of angiogenesis in human PC-3 prostate tumor xenografts, *Molecular Cancer Therapeutics*, **6**(1): 101-111.
- Ang, H. H., K. L. Chan and J. W. Mak, 2007, In vitro antimalarial activity of quassinoids from *Eurycoma longifolia* against Malaysian chloroquine-resistant *Plasmodium falciparum* isolates, *Planta medica*, **61**(02): 177-178.
- Ang, H. H., S. Ikeda and E. K. Gan, 2001, Evaluation of the potency activity of aphrodisiac in *Eurycoma longifolia* Jack, *Phytotherapy Research*, **15**(5): 435-436.
- Ariff AST., Ima NS., J. Pramanik., Ahmad NS., 2012., Effects of *Eurycoma longifolia* on Testosterone Level and Bone Structure in an Aged Orchidectomised Rat Model, Hindawi Publishing Corporation Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine, Article ID 818072, 7 pages
- Augsburger, L.L., 2000, *Modern Pharmaceuics: Hard and Soft Gelatin Capsules*, (Ed. 2), New York: Mercel Dekker.
- Becker, U., Deis, A., Thorkild I. A. Sørensen, Grønbaek, M., Johnsen, K.B, Müller, C.F., Schnohr, P., And Jensen, G. 1995. "Prediction of Risk of Liver Disease by Alcohol Intake, Sex, and Age: A Prospective Population Study". *International Classification of Diseases* : 1025.
- Bedir, E., Gazar, H., A., Ngwendson, J., N., Khan, I., A., 2003, Eurycomaoside: A New Quassinoid-Type Glycoside from the Roots of *Eurycoma longifolia*, *Chem. Pharm. Bull*, Vol 51, 1301-1303.
- Bhat, R & A. A. Karim, 2010, "Tongkat Ali (*Eurycoma longifolia* Jack): a review on its ethnobotany and pharmacological importance," *Fitoterapia*, vol. 81, no. 7, pp. 669–679.
- Bhat, R. and A. A. Karim, Tongkat Ali (*Eurycoma longifolia* Jack): A review on its ethnobotany and pharmacological importance, *Fitoterapia*, **81**(7): 669-679.
- Buraimoh, A.A., I.G. Bako, and F.B. Ibrahim. 2011. Hepatoprotective effect of ethanolic leave extract of *Moringa oleifera* on the histology of paracetamol induced liver damage in wistar rats. *Int. J. Anim. Vet. Adv.* 3(1):10-13.
- Boyer TD, Manns MP, Sanyal AJ. Zakim and Boyer's Hepatology: A textbook of Liver Disease 6th ed. Philadelphia: Saunders. 2012.
- Bridgen, M. 2005. *Clinical Utility of the Erythrocyte Sedimentation Rate*. Canada : Cancer Agency

- Cahyo, Kris, 2013, Pemeriksaan Darah Lengkap <http://www.itd.unair.ac.id/files/pdf/protocoll>, Diakses tanggal 19 Oktober 2015.
- Chan, K. L., M. J. O'Neill, J. D. Phillipson, et al., 2007, Plants as Sources of Antimalarial Drugs. Part 31 *Eurycoma longifolia*, *Planta medica*, **52**(02): 105-107.
- Ching-H. L, Jiunn-W. Liao, Po-Lin Liao, Wei-K. Huang, Ling-S. Tse, Cheng-H. Lin, J. Jou Kang, and Yu-W. Cheng. 2013. "Evaluation of Acute 13-Week Subchronic Toxicity and Genotoxicity of the Powdered Root of Tongkat Ali (*Eurycoma longifolia* Jack)". *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, Vol 2013 : 11.
- Coley, H. M., 2008, Mechanisms and strategies to overcome chemotherapy resistance in metastatic breast cancer, *Cancer treatment reviews*, **34**(4): 378-390.
- Covaleda, A. M. S., H. van den Berg, J. Vervoort, et al., 2008, Influence of cellular ER α /ER β ratio on the ER α -agonist induced proliferation of human T47D breast cancer cells, *Toxicological sciences*, **105**(2): 303-311.
- Dewoto, H.R., 2007, Pengembangan Obat Tradisional Indonesia Menjadi Fitofarmaka, Maj Kedokt Indon, Volum: 57, Nomor: 7.
- Diaz-Montero, C. M., M. L. Salem, M. I. Nishimura, et al., 2009, Increased circulating myeloid-derived suppressor cells correlate with clinical cancer stage, metastatic tumor burden, and doxorubicin cyclophosphamide chemotherapy, *Cancer Immunology, Immunotherapy*, **58**(1): 49-59.
- Domitrović, R., H. Jakovac, and G. Blagojević. 2011. Hepatoprotective activity of berberine is mediated by inhibition of TNF- α , COX-2, and iNOS expression in CCl₄-intoxicated mice. *Toxicology*. 280:33-43
- Eng, A., 2007, Correcting systemic androgen levels using *Eurycoma longifolia*. U.S. Patent Application 11/176,464, filed July 7, 2005, U.S. patent 20070009621.
- Eyler, C. E. and J. N. Rich, 2008, Survival of the fittest: cancer stem cells in therapeutic resistance and angiogenesis, *Journal of Clinical Oncology*, **26**(17): 2839-2845.
- Faisal, G.G., Basma E.M., Al-Ahmad, Nazih S.M., Faizal, G.M., Osama Y.A., 2014, "The effect of *eurycoma longifolia* jack root extract on serum lipids of rats", *Proceeding*, International Conference on Natural Products, Putrajaya, Page: 82-82
- Ghavami, S., M. Hashemi, S. R. Ande, et al., 2009, Apoptosis and cancer: mutations within caspase genes, *Journal of medical genetics*, **46**(8): 497-510.
- Girindra, A. 1996. Patologi Klinik Veteriner. Fakultas Kedokteran Hewan IPB : Bogor.
- Goossens, L., N. Pommery and J. Pierre Henichart, 2007, COX-2/5-LOX dual acting anti-inflammatory drugs in cancer chemotherapy, *Current topics in medicinal chemistry*, **7**(3): 283-296.
- Greenhough, A., H. J. M. Smartt, A. E. Moore, et al., 2009, The COX-2/PGE2 pathway: key roles in the hallmarks of cancer and adaptation to the tumour microenvironment, *Carcinogenesis*, **30**(3): 377-386.

- Guyton AC dan Hall E. 2006. Fisiologi Kedokteran edisi ke-11. Jakarta: EGC. hlm. 204-11
- Halliwell, B., 2007, Oxidative stress and cancer: have we moved forward?, *Biochem. j*,401: 1-11.
- Hamzah, S., A. Yusof., 2008, The Ergogenic Effect Of Eurycoma Longifolia Jack, Pilot Study, *Br J Spor Med*;37:464-470.
- Hayati, Farida, 2013, Uji Praklinik dan Uji Klinik Fase I Ekstrak Air Akar Pasak Bumi (*Eurycoma longifolia*, Jack) Terstandar sebagai Afrodisiaka, *Disertasi*, Fakultas Kedokteran Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.
- Henkel, Rafl R, *et al*, 2013, Tongkat Ali as a Potential Herbal Supplement for Physically Active Male and Female Seniors-A Pilot Study, *Phytotherapy Research*.
- Husen, R., Azimahtol H.L.P., Nallappan, M., 2004, *Screening For Antihyperglycaemic Activity In Several Local Herbs Of Malaysia*, *Journal of Ethnopharmacology* 95 (2004) 205–208.
- Jemal, A., R. Siegel, E. Ward, *et al.*, 2008, Cancer statistics, 2008, *CA: a cancer journal for clinicians*,58(2): 71-96.
- Kang, M. H. and C. P. Reynolds, 2009, Bcl-2 inhibitors: targeting mitochondrial apoptotic pathways in cancer therapy, *Clinical cancer research*,15(4): 1126-1132.
- Kardono, L. B. S., C. K. Angerhofer, S. Tsauri, *et al.*, 1991, Cytotoxic and antimalarial constituents of the roots of *Eurycoma longifolia*, *Journal of natural products*,54(5): 1360-1367.
- Kearney, P.M., Megan Whelton, Kristi Reynolds, Paul Muntner, Paul K Whelton, Jiang He, 2005, Global burden of hypertension: analysis of worldwide data,*Lancet*2005; 365: 217–23.
- Kementerian Kesehatan Republik Indonesia (Kemenkes), 2011, *Pedoman Interpretasi Data Klinik*, Jakarta.
- Kim, H., H. Chung, H.-J. Kim, *et al.*, 2008, Id-1 regulates Bcl-2 and Bax expression through p53 and NF- κ B in MCF-7 breast cancer cells, *Breast cancer research and treatment*,112(2): 287-296.
- Kuo, P.-C., L.-S. Shi, A. G. Damu, *et al.*, 2003, Cytotoxic and antimalarial \hat{I}^2 -carboline alkaloids from the roots of *Eurycoma longifolia*, *Journal of natural products*,66(10): 1324-1327.
- Mahfudh, N. and A. H. L. Pihie, 2008, Eurycomanone induces apoptosis through the up-regulation of p53 in human cervical carcinoma cells, *Journal of cancer molecules*,4(4): 109-115.
- Mahmood, M., R. Normi and S. Subramaniam, Optimization of suitable auxin application in a recalcitrant woody forest plant of *Eurycoma longifolia* (Tongkat Ali) for callus induction, *African Journal of Biotechnology*,9(49): 8417-8428.
- Malkin CJ., Jones RD., Jones TH., Channer KS., 2006, Effect of testosterone on ex vivo vascular reactivity in man. *Clin Sci*; 111:265-74.
- Mi, J., X. Zhang, Z. N. Rabbani, *et al.*, 2007, RNA aptamer-targeted inhibition of NF- \hat{I}^2 B suppresses non-small cell lung cancer resistance to doxorubicin, *Molecular Therapy*,16(1): 66-73.

- Minorsky, P.V, 2004. On the inside. *Plant Physiology* **131**(3):1157-1158.
- Miyake, K., Y. Tezuka, S. Awale, et al., 2009, Quassinoids from *Eurycoma longifolia*, *Journal of natural products*, **72**(12): 2135-2140.
- Mok, T. S. K., W. Yeo, P. J. Johnson, et al., 2007, A double-blind placebo-controlled randomized study of Chinese herbal medicine as complementary therapy for reduction of chemotherapy-induced toxicity, *Annals of oncology*, **18**(4): 768-774.
- Mokhtar, R.H., Abdullah Na., Ayob A., 2014, Effects of *Eurycoma Longifolia* Extract on the Isolated Rat Heart, *IMJM*, Volume 13 Number 1.
- Muffichatum, 2006, *Hubungan antara Tekanan Panas, Denyut Nadi dan Produktivitas Kerja pada pekerja Pandai Besi Paguyuban Wesi Aji Dororejo Batang*. <http://digilib.unnes.ac.id>. Diakses pada tanggal 12 Agustus 2016
- Muhamad AZ., Chen Chee Keong., Ooi Foong Kiew., Mohd Rusli Abdullah., Chan Kit Lam., 2010, Effects of *Eurycoma longifolia* Jack Supplementation on Recreational Athletes' Endurance Running Capacity and Physiological Responses in the Heat, *International Journal of Applied Sports Sciences*, Vol. 22, No. 2, 1-19 .
- Muhamad, S., A. H. L. Pihie, J. Latif, et al., Induction of apoptosis in MCF-7 via the caspase pathway by longilactone from *Eurycoma longifolia* Jack, *Res. Pharm. Biotechnol*, **3**: 1-10.
- Nassar, A., D. Lawson, G. Cotsonis, et al., 2008, Survivin and caspase-3 expression in breast cancer: correlation with prognostic parameters, proliferation, angiogenesis, and outcome, *Applied Immunohistochemistry & Molecular Morphology*, **16**(2): 113-120.
- Nitiss, J. L., 2009, Targeting DNA topoisomerase II in cancer chemotherapy, *Nature Reviews Cancer*, **9**(5): 338-350.
- Novianti, S, 2015, Pemberian ekstrak etanol akar pasak bumi secara oral meningkatkan kadar hormon testosterone tikus wistar jantan tua, *Tesis*, Program Pasca Sarjana Universitas Udayana.
- Nurani, L. H., 2011, Mekanisme molekuler akar pasak bumi (*Eurycoma longifolia* Jack) sebagai antikanker dan kemopreventif, *Disertasi*, Fakultas Kedokteran UGM, Yogyakarta,
- Nurani, L. H., Mubarika, S., Pramono, S., and Mustofa, 2008, Uji kemopreventif ekstrak etanol akar pasak bumi (*Eurycoma longifolia* Jack) terhadap kanker payudara pada tikus galur sprague dawley yang diinduksi 7,12 Dimetilbenz-anthrasen *Prosiding Seminar Nasional POKJANAS TOI, Sinergi antara obat herbal dan obat sintesis dalam optimalisasi penyakit*, Yogyakarta.
- Nurani, L. H., Mubarika, S., Pramono, S., and Mustofa, 2009, The cytotoxicity of extract of *Eurycoma longifolia* Jack root on T47D cell line, *Proseeding International Symposium Cancer*, UAD, Yogyakarta
- Nurani, L.H., Mubarika, S., Pramono, S., and Mustofa., 2012, Pemacuan p53 oleh ekstrak etanol akar pasak bumi pada tikus SD yang diinduksi DMBA, *Pharmacyana*, in press

- Nurani, L.H., Utami, D., Salamah, N., 2011, The cytotoxic effect of isolate of Eurycomanone of Pasak Bumi (*Eurycoma longifolia* Jack) Roots to T47D cell lines, Proceeding, International Joint Symposium Faculty of Medicines Universitas Gadjah Mada.
- Nurhanan, M. Y., L. P. Hawariah, A. M. Ilham, et al., 2005, Cytotoxic effects of the root extracts of *Eurycoma longifolia* Jack, *Phytotherapy Research*, **19**(11): 994-996.
- Ooi, F. K., Singh, R., Sirisinghe, R. G., Ang, B. S., & Sahil Jamalullail, S. M., 2003, Effects of a herbal drink on cycling endurance performance, *Mal. J. Nutr.*, 10(1), 78-85.
- Panjaitan, R.G.P., Handharyani E, Chairul & Manalu W, 2013, Hepatoprotective activity of *Eurycoma longifolia* Jack. roots, *Indian J Tradit Knowle*, 12 (2)225-230.
- Panjaitan, R.G.P., Manalu, W., Handharyani, E., Chairul, 2011, "Hepatoprotector Activity Of Methanol Extract And Its Derivates Fractions Of *Eurycoma Longifolia* Jack. Roots", *Jurnal Veteriner*, Vol. 12 No. 4: 319-325
- Pugh PJ., Jones RD., Jones TH., Channer KS., 2002, Intrinsic response of rat coronary arteries in vitro. *Endocrine*; **19**:155-61.
- Rehman S.U., Choe K., Yoo, Hye Yoon. 2016. "Eurycoma longifolia Jack (Tongkat Ali): Its Traditional Uses, Chemistry, Evidence-Based Pharmacology and Toxicology". *Traditional Herbal Medicine*. 21 – 331.
- Roselyndiar, 2012, Formulasi Kapsul Kombinasi Ekstrak Herba Seledri (*Apium graveolens* L.) dan Daun Tempuyung (*Sonchus arvensis* L.), *Skripsi*, Fakultas MIPA, Universitas Indonesia
- Rosli, N., M. Maziah, K. L. Chan, et al., 2009, Factors affecting the accumulation of 9-methoxycanthin-6-one in callus cultures of *Eurycoma longifolia*, *Journal of Forestry Research*, **20**(1): 54-58.
- Ronco C, Ricci Z, De Backer D, et al. Renal replacement therapy in acute kidney injury: controversy and consensus. *Critical Care*. **2015**;19(1):146. <http://doi:10.1186/s13054-015-0850-8>.
- Schneider, B. P. and G. W. Sledge, 2007, Drug insight: VEGF as a therapeutic target for breast cancer, *Nature Clinical Practice Oncology*, **4**(3): 181-189.
- Schriger DL, 2007, Approach to the patient with abnormal vital signs. Goldman L, Ausiello D. *Cecil Textbook of Medicine*. 23rd ed. Philadelphia, Pa:Saunders Elsevier;:chap 7
- Smith, L., M. B. Watson, S. L. O'Kane, et al., 2006, The analysis of doxorubicin resistance in human breast cancer cells using antibody microarrays, *Molecular Cancer Therapeutics*, **5**(8): 2115-2120.
- Shuid AS., Nazrun S., Mohd FAB., Tajul ABS., Norliza M., Norazlina M., & Ima NS. 2011. The anti-osteoporotic effect of *Eurycoma Longifolia* in aged orchidectomised rat mode. *The Aging Male* ; 14(3): 150–154.
- Smeltzer, S.C., & Bare, B.G. 2001. *Buku Ajar Keperawatan Medikal Bedah*. Jakarta: EGC. 45-47
- Soussi, T. and K. G. Wiman, 2007, Shaping genetic alterations in human cancer: the p53 mutation paradigm, *Cancer cell*, **12**(4): 303-312.

- Tassaduqe, K., Ali, M., Salam, A., 2003, 'Studies on hemoglobin concentration in relation to sex, age, and season among the population of Multan, Pakistan,' *Pak Jour Bio Sci*, 6(12):1030-2
- Tee, T. T. and H. L. P. Azimahtol, 2005, Induction of apoptosis by *Eurycoma longifolia* Jack extracts, *Anticancer research*, 25(3B): 2205-2213.
- Tee, T. T., Y. H. Cheah and L. P. A. Hawariah, 2007, F16, a fraction from *Eurycoma longifolia* jack extract, induces apoptosis via a caspase-9-independent manner in MCF-7 cells, *Anticancer research*, 27(5A): 3425-3430.
- Tee, B.H., See Ziau Hoe, Swee Hung Cheah, Sau Kuen Lam, 2016, First Report of *Eurycoma longifolia* Jack Root Extract Causing Relaxation of Aortic Rings in Rats, *Hindawi Publishing Corporation BioMed Research International* Volume 2016, Article ID 1361508, 9 pages.
- Tewari, M., A. Krishnamurthy and H. S. Shukla, 2008, Predictive markers of response to neoadjuvant chemotherapy in breast cancer, *Surgical oncology*, 17(4): 301-311.
- Udani JK., Annie AG., Mufiza M., Michael N.P., Azreena A., Effects of a Proprietary Freeze-Dried Water Extract of *Eurycoma longifolia* (Physta) and *Polygonum minus* on Sexual Performance and Well-Being in Men: A Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled Study. *Hindawi Publishing Corporation Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, Article ID 179529, 10 pages.
- Vazquez, A., E. E. Bond, A. J. Levine, et al., 2008, The genetics of the p53 pathway, apoptosis and cancer therapy, *Nature Reviews Drug Discovery*, 7(12): 979-987.
- Viele, C. S., 2007, Managing oral chemotherapy: the healthcare practitioner's role, *American journal of health-system pharmacy*, 64(9 Supplement 5): S25-S32.
- Von Minckwitz, G., H.-P. Sinn, G. n. Raab, et al., 2008, Clinical response after two cycles compared to HER2, Ki-67, p53, and bcl-2 in independently predicting a pathological complete response after preoperative chemotherapy in patients with operable carcinoma of the breast, *Breast Cancer Res*, 10(2): R30.
- Wernsdorfer, W. H., S. Ismail, K. L. Chan, et al., 2009, Activity of *Eurycoma longifolia* root extract against *Plasmodium falciparum* in vitro, *Wiener klinische Wochenschrift*, 121(3): 23-26.
- Wickramasinghe, N. S., T. T. Manavalan, S. M. Dougherty, et al., 2009, Estradiol downregulates miR-21 expression and increases miR-21 target gene expression in MCF-7 breast cancer cells, *Nucleic Acids Research*, 37(8): 2584-2595.
- Zakaria, Y., A. Rahmat, A. H. L. Pihie, et al., 2009, *Eurycoma longifolia* induce apoptosis in HepG2 cells via up-regulation of p53, *Cancer Cell Int*, 9(16): 1-21.
- Zhang, X.-H., D.-P. Huang, G.-L. Guo, et al., 2008, Coexpression of VEGF-C and COX-2 and its association with lymphangiogenesis in human breast cancer, *BMC cancer*, 8(1): 4.

LAMPIRAN

Lampiran 1. Instrumen

FORMULIR EVALUASI ATAS CAPAIAN LUARAN KEGIATAN

Ketua : Dr. Laela Hayu Nurani., M.Si., Apt
 Perguruan Tinggi : Universitas Ahmad Dahlan
 Judul : Potensi Efek Antikanker Kombinasi Fraksi Etil Asetat Akar Pasak Bumi (*Eurycoma longifolia* Jack) Dengan Obat Kemoterapi Kanker
 Waktu Kegiatan : tahun ke 3 dari rencana 3 tahun

Luaran yang direncanakan dan capaian tertulis dalam proposal awal:

No	Luaran yang Direncanakan	Capaian
1	Artikel	Draft artikel dengan judul: Uji Klinik Kapsul Ekstrak Akar Pasak Bumi (<i>Eurycoma longifolia</i> , Jack) terhadap <i>vital sign</i>
2	Artikel	Draft artikel dengan judul: Efek Kapsul Ekstrak Etanol Akar pasak Bumi (<i>Eurycoma longifolia</i> , Jack) Terhadap Hematologi Darah
3	Artikel	Draft artikel dengan judul: Efek Kapsul Ekstrak Etanol Akar Pasak Bumi (<i>Eurycoma longifolia</i> , Jack) Terhadap Sgot, Sgpt & Bilirubin Dan Profil Lemak Pada Relawan sehat

CAPAIAN (Lampirkan bukti-bukti luaran dari kegiatan dengan judul yang tertulis di atas, bukan dari kegiatan penelitian/pengabdian dengan judul lain sebelumnya)

1. PUBLIKASI ILMIAH

	Keterangan
Artikel Jurnal Ke-1*	
Nama jurnal yang dituju	Jurnal Sains dan Kesehatan
Klasifikasi jurnal	Jurnal Nasional ber-ISSN
<i>Impact factor</i> jurnal	

Judul artikel	Pemberian Ko-Kemoterapi Fraksi Etil Asetat Akar Pasak Bumi (<i>Eurycoma longifolia</i> Jack) Terhadap Ekspresi Protein Nf-K β Pada Tikus Sprague Dawley Yang Diinduksi DMBA
- Draf artikel	
- Sudah dikirim ke jurnal	
- Sedang ditelaah	
- Sedang direvisi	
- Revisi sudah dikirim ulang	
- Sudah diterima	
- Sudah terbit	Sudah terbit

Artikel ke-2:

	Keterangan
Artikel Jurnal Ke-1*	
Nama jurnal yang dituju	Pharmaciana
Klasifikasi jurnal	Jurnal Nasional ber-ISSN
<i>Impact factor</i> jurnal	
Judul artikel	Pengaruh Pemberian Kombinasi Fraksi Etil Asetat Akar Pasak Bumi Dan Doxorubicin Terhadap Berat Badan Dan Jumlah Nodul Tikus Sprague Dawley Betina Yang Diinduksi 7,12 Dimetilbenz(A) Antrasen (DMBA)
- Draf artikel	
- Sudah dikirim ke jurnal	
- Sedang ditelaah	
- Sedang direvisi	
- Revisi sudah dikirim ulang	
- Sudah diterima	
- Sudah terbit	Sudah terbit

Artikel ke-3:

	Keterangan
Artikel Jurnal Ke-1*	
Nama jurnal yang dituju	<u>Journal of Tropical Pharmacy and Chemistry</u>
Klasifikasi jurnal	Jurnal Nasional ber-ISSN

<i>Impact factor</i> jurnal	
Judul artikel	Uji Sitotoksik Dan Uji Kombinasi Fraksi Etil Asetat Ekstrak Etanol Akar Pasak Bumi (<i>Eurycomal longifolia</i> Jack.) Dan Doksorubisin Pada Sel Limfosit
- Draf artikel	
- Sudah dikirim ke jurnal	
- Sedang ditelaah	
- Sedang direvisi	
- Revisi sudah dikirim ulang	
- Sudah diterima	
- Sudah terbit	Sudah terbit
	Keterangan
Artikel Jurnal Ke-1*	
Nama jurnal yang dituju	Journal of Food Properties
Klasifikasi jurnal	Jurnal Internasional
Impact factor jurnal	1.586
Judul artikel	The Effects Of Combination Ethanol Extract The Pasak Bumi Roots Induced DMBA (7,12-Dimetilbenz (A) Antrasen) With Chemotherapy Drugs Doxorubicin For Hematologic Examination
- Draf artikel	
- Sudah dikirim ke jurnal	
- Sedang ditelaah	
- Sedang direvisi	
- Revisi sudah dikirim ulang	
- Sudah diterima	
- Sudah terbit	Sudah di kirim ke jurnal

2. BUKU AJAR

Buku ke-1
Judul: Biologi Sel
Penulis: Dr. Laela Hayu Nurani, M.Si., Apt
Penerbit: UAD

Buku ke-2
Judul: Farmakognosi
Penulis: Dr. Laela Hayu Nurani, M.Si., Apt
Penerbit: UAD Press

Jika masih ada buku ke-2 dan seterusnya, uraikan pada lembar tambahan.

3. PEMBICARA PADA PERTEMUAN ILMIAH (SEMINAR/SIMPOSIUM)

	Nasional	International
Judul Makalah		The Effect Of The Combination Of Acetic Ethyl Fraction Of Pasak Bumi Root And Doxorubicin On Leucocytes And Erithrocytes Concentration Of DMBA Induced Sd Mice
Nama Pertemuan Ilmiah		Pontianak International Conference on Advanced Pharmaceutical Sciences (PICAPS) 2015
Tempat Pelaksanaan		Harris Hotel, Pontianak - Indonesia
Waktu Pelaksanaan		14-15 September 2015
- Draf makalah		
- Sudah dikirim		
- Sedang direview		
- Sudah dilaksanakan		Sudah dilaksanakan

	Nasional	International
Judul Makalah		Co-chemotherapy tes of ethyl acetate fracton of pasak bumi roots extract (<i>Eurycoma longifolia</i> Jack) Againts T47d Cells Which Exposed By Doxorubicin
Nama Pertemuan Ilmiah		International Conference Herbal Medicine Industrialization as Complementary Therapy n Natural Disasters
Tempat Pelaksanaan		Royal Ambarukmo Hotel,

		Yogyakarta - Indonesia
Waktu Pelaksanaan		7 Januari 2015
- Draf makalah		
- Sudah dikirim		
- Sedang direview		
- Sudah dilaksanakan		Sudah dilaksanakan

	Nasional	International
Judul Makalah	Uji Sitotoksik dan Uji KombinasiFraksiEtilAsetatEkstrakEtanolAkar Pasak Bumi (<i>Eurycoma Longifolia</i> Jack.,) dan Doksorubisin pada Sel Limfosit	
Nama Pertemuan Ilmiah	Seminar Nasional Farmasi Universitas Mulawarman	
Tempat Pelaksanaan	Aula Lt.IV Gedung Rektorat Universitas Mulawarman, Samarinda, Kalimantan Timur.	
Waktu Pelaksanaan	5-6 Juni 2015	
- Draf makalah		
- Sudah dikirim		
- Sedang direview		
- Sudah dilaksanakan	Sudah dilaksanakan	

	Nasional	International
Judul Makalah		Screening Active Fraction Of Ethanolic Extract Of Pasak Bumi (<i>Eurycoma longifolia</i> , Jack) Root As Antioxidant
Nama Pertemuan Ilmiah		The 46 th Symposium of National Working Group of Indonesia Medicinal Plant International Symposium on Medicinal Plant and Traditional Medicine

Tempat Pelaksanaan		Tawamanggu - Indonesia
Waktu Pelaksanaan		4-6 Juni 2014
- Draf makalah		
- Sudah dikirim		
- Sedang direview		
- Sudah dilaksanakan		Sudah dilaksanakan

	Nasional	International
Judul Makalah	Efek Fraksi Etil Asetat Ekstrak Etanol Akar Pasak Bumi (<i>Eurycoma longifolia</i> , Jack) Yang Dipapar Doxorubicin Terhadap Ekspresi MHC Kelas II Pada Sel Limfosit	
Nama Pertemuan Ilmiah	Seminar Nasional Peran Antioksidan Dalam Penanganan Penyakit Degeneratif	
Tempat Pelaksanaan	Yogyakarta - Indonesia	
Waktu Pelaksanaan	28 Maret 2015	
- Draf makalah		
- Sudah dikirim		
- Sedang direview		
- Sudah dilaksanakan	Sudah dilaksanakan	

	Nasional	International
Judul Makalah	Efek Imunostimulansia Fraksi Etil Asetat Ekstrak Etanol Akar Pasak Bumi (<i>Eurycoma longifolia</i> , Jack) Terhadap Ekspresi IL-12 Dan COX-2 Pada Sel Limfosit Yang Dipapar Doxorubicin	
Nama Pertemuan Ilmiah	Seminar Nasional	

	Peran Antioksidan Dalam Penanganan Penyakit Degeneratif	
Tempat Pelaksanaan	Yogyakarta - Indonesia	
Waktu Pelaksanaan	28 Maret 2015	
- Draf makalah		
- Sudah dikirim		
- Sedang direview		
- Sudah dilaksanakan	Sudah dilaksanakan	

	Nasional	International
Judul Makalah	Efek Immunostimulansia Fraksi Etil Asetat Ekstrak Etanol Akar Pasak Bumi (<i>Eurycoma longifolia</i> , Jack) Terhadap Ekspresi Interleukin-10 Pada Sel Limfosit Yang Dipapar Doxorubicin	
Nama Pertemuan Ilmiah	Seminar Nasional Peran Antioksidan Dalam Penanganan Penyakit Degeneratif	
Tempat Pelaksanaan	Yogyakarta - Indonesia	
Waktu Pelaksanaan	28 Maret 2015	
- Draf makalah		
- Sudah dikirim		
- Sedang direview		
- Sudah dilaksanakan	Sudah dilaksanakan	

	Nasional	International
Judul Makalah	Uji Imunositokimia Fraksi Etil Asetat Ekstrak Etanol Akar Pasak Bumi (<i>Eurycoma longifolia</i> , Jack) Pada Sel T47D Terhadap Ekspresi Cyclin D1 Yang Dipapar	

	Doxoprubicin	
Nama Pertemuan Ilmiah	Seminar Nasional Peran Antioksidan Dalam Penanganan Penyakit Degeneratif	
Tempat Pelaksanaan	Yogyakarta - Indonesia	
Waktu Pelaksanaan	28 Maret 2015	
- Draf makalah		
- Sudah dikirim		
- Sedang direview		
- Sudah dilaksanakan	Sudah dilaksanakan	

	Nasional	International
Judul Makalah	Uji Aktivitas Kombinasi Fraksi Etil Asetat Ekstrak Etanol Akar Pasak Bumi (<i>Eurycoma longifolia</i> , Jack) Dan Doxorubicin Terhadap Ekspresi TRAIL, Kaspase3 Dan Kaspase9 Pada Sel T47D	
Nama Pertemuan Ilmiah	Seminar Nasional Peran Antioksidan Dalam Penanganan Penyakit Degeneratif	
Tempat Pelaksanaan	Yogyakarta - Indonesia	
Waktu Pelaksanaan	28 Maret 2015	
- Draf makalah		
- Sudah dikirim		
- Sedang direview		
- Sudah dilaksanakan	Sudah dilaksanakan	

	Nasional	International
Judul Makalah	Efek Kombinasi Fraksi Etil Asetat Ekstrak Etanol Akar Pasak Bumi (<i>Eurycoma</i>	

	<i>longifolia</i> , Jack) Dengan Doxorubicin Terhadap Antiproliferasi Dan Apoptosis Serta Ekspresi Ras Sel T47D	
Nama Pertemuan Ilmiah	Seminar Nasional Peran Antioksidan Dalam Penanganan Penyakit Degeneratif	
Tempat Pelaksanaan	Yogyakarta - Indonesia	
Waktu Pelaksanaan	28 Maret 2015	
- Draf makalah		
- Sudah dikirim		
- Sedang direview		
- Sudah dilaksanakan	Sudah dilaksanakan	

	Nasional	International
Judul Makalah	Efek Ko-Kemoterapi Fraksi Etil Asetat Akar Pasak Bumi (<i>Eurycoma longifolia</i> , Jack) Terhadap Ekspresi Bax Dan Bcl-2 Pada Sel T47D	
Nama Pertemuan Ilmiah	Seminar Nasional Peran Antioksidan Dalam Penanganan Penyakit Degeneratif	
Tempat Pelaksanaan	Yogyakarta - Indonesia	
Waktu Pelaksanaan	28 Maret 2015	
- Draf makalah		
- Sudah dikirim		
- Sedang direview		
- Sudah dilaksanakan	Sudah dilaksanakan	


Jika masih ada pertemuan ilmiah ke 2 dan seterusnya uraikan pada lembar tambahan.

4. SEBAGAI PEMBICARA KUNCI (*KEYNOTE SPEAKER*)

	Nasional	International
- Bukti undangan dari Panitia		
- Judul makalah		
- Penulis		
- Penyelenggara		
- Waktu Pelaksanaan		
- Tempat Pelaksanaan		
- Draf makalah		
- Sudah dikirim		
- Sedang direview		
- Sudah dilaksanakan		

Jika masih ada undangan ke-2 dan seterusnya, uraikan pada lembar tambahan.

5. UNDANGAN SEBAGAI *VISITING SCIENTIST* PADA PERGURUAN TINGGI LAIN

	Nasional	International
- Bukti undangan		
- Perguruan tinggi pengundang	Akademi Farmasi ISFI Banjarmasin	
- Lama kegiatan	2 hari	
- Kegiatan penting yang dilakukan	Menjadi Narasumber / pembicara pada Workshop Penulisan Proposal Penelitian	

Jika masih ada undangan ke-2 dan seterusnya, uraikan pada lembar tambahan.

6. CAPAIAN LUARAN LAINNYA

HKI	(Uraikan status kemajuan mulai dari pengajuan sampai “ <i>granted</i> ”)
TEKNOLOGI TEPAT GUNA	(Uraikan siapa masyarakat pengguna teknologi yang dimaksud)
REKAYASA SOSIAL	(Uraikan kebijakan publik yang sedang atau sudah dapat diubah)
JEJARING KERJA SAMA	(Uraikan kapan jejaring dibentuk dan kegiatannya sampai saat ini, baik antar peneliti maupun antar lembaga)
PENGHARGAAN	(Uraikan penghargaan yang diterima sebagai peneliti, baik dari pemerintah atau asosiasi profesi)
LAINNYA (Tuliskan)	

Jika luaran yang direncanakan tidak tercapai, uraikan alasannya:

.....

Yogyakarta, 12 / Oktober / 2016

Ketua



Dr. Laela Hayu Nurani., M.Si., Apt

Lampiran 2. Personalia

Biodata Ketua dan Anggota Penelitian

A. Identitas Diri

1	Nama Lengkap	Dr. Laela Hayu Nurani, M.Si., Apt
2	Jabatan Fungsional	Lektor
3	Jabatan Struktural	Ketua Program Studi S2 Farmasi
4	NIP/NIK/Identitas lainnya	60990195 (Nomor Induk Yayasan di UAD)
5	NIDN	0520097501
6	Tempat dan Tanggal Lahir	Yogyakarta, 20 September 1975
7	Alamat Rumah	Jl Munggur No 73 Yogyakarta 55221
8	Nomor Telepon/Faks/ HP	08562863116
9	Alamat Kantor	Fak. Farmasi UAD, Jl Prof. Dr. Soepomo, Janturan YK
10	Nomor Telepon/Faks	
11	Alamat e-mail	laelafarmasi@yahoo.com
12	Lulusan yang Telah Dihasilkan	S-1= 118 orang; S-2= 2 S-3= -
13	Mata Kuliah yg Diampu	Fitokima Biologi Sel Metodologi Penelitian

B. Riwayat Pendidikan

	S1	S2	S3
Nama Perguruan Tinggi	Universitas Gadjah Mada	Universitas Gadjah Mada	Universitas Gadjah Mada
Bidang Ilmu Tahun	Farmasi	Farmasi	Kedokteran
Masuk-Lulus	1993-1998	2001-2004	2006-2011
Judul Skripsi/Thesis/Disertasi	Isolasi dan Uji Toksisitas Ekstrak Etanol <i>Sponge</i> Kode B ₅₃ terhadap Larva <i>Artemia salina</i> Leach	Isolasi dan identifikasi flavonoid infusa daun Srikaya (<i>Annona squamosa</i> , L) dan uji antiproliferasi terhadap sel HeLa	Mekanisme Molekuler Antikanker Senyawa Aktif Akar Pasak Bumi (<i>Eurycoma longifolia</i> Jack)
Nama Pembimbing/Promotor	Prof. Drs. Subagus Wahyuono, Apt., Ph.D	I. Prof. Dr. Suwijiyono Pramono, DEA., Apt II. Prof. Dr. Sudjadi, SU., Apt	I. Prof. dr. Sofia Mubarika, M.MedSc., PhD II. Prof. Dr. Mustofa, M.Kes., Apt III. Prof. Dr. Suwijiyono Pramono, DEA., Apt

C. Pengalaman Penelitian Dalam 5 Tahun Terakhir

No	Tahun	Judul Penelitian	Pendanaan	
			Sumber	Jml (Juta Rp)
1	2013	PEMBENTUKAN TARGETING NANOPARTIKEL-KITOSAN SEBAGAI UPAYA MINIMALISASI EFEK TOKSIK ANTIKANKER AKAR PASAK BUMI (Anggota)	DIKTI Hibah Bersaing	49,9
2	2010 dan 2011	ISOLAT EURIKOMANON EKSTRAK AKAR PASAK BUMI (<i>Eurycoma longifolia</i> Jack) SEBAGAI PEMACU APOPTOSIS SEL KANKER KULIT TIKUS Balb/c YANG DIPAPAR SINAR UV (KAJIAN MEKANISME ANTIKANKER BAHAN ALAM) (Anggota)	DIKTI Hibah Fundamental	58,875
3	2009 dan 2010	KAJIAN AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DAN IMUNOMODULATOR AGEN KEMOPREVENTIF SEDIAAN TERSTANDARD ISOLAT AKTIF KUASIONOID EKSTRAK AKAR PASAK BUMI (<i>Eurycoma longifolia</i> Jack) PADA KANKER PAYUDARA TIKUS YANG DIINDUKSI DMBA (Ketua)	RISTEK, Program Insentif Riset Dasar	571,3
4	2009	PENGARUH EKSTRAK ETANOL AKAR PASAK BUMI (<i>Eurycoma longifolia</i> Jack) TERHADAP ENZIM SITOKROM P-450 DAN GEN P53 TIKUS SD YANG DIINDUKSI DMBA (Ketua)	DIKTI, Hibah Doktor	47,5

5	2008 DAN 2009	KAJIAN AKTIVITAS IMUNOMODULATOR AGEN KEMOPREVENTIF ISOLAT AKTIF EKSTRAK <i>Nigella sativa</i> PADA KANKER PAYUDARA AKIBAT PAPARAN DMBA PADA TIKUS PUTIH (<i>Spangue Dawley</i>) (Anggota)	RISTEK, Program Insentif Riset Dasar (Tahun kedua)	196,0
	2007	PENGEMBANGAN IMUNOMODULATOR KEMOPREVENTIF DARI SEDIAAN BUAH MERAH (<i>Pandanus conoideus</i>) YANG ADA DI PASARAN TERHADAP KANKER MAMMAE TIKUS SPRANGUE DAWLEY YANG DIINDUKSI DIMETIL BENZ(A)ANTRASENA (DMBA) (Anggota)	DIKTI, HIBAH PEKERTI	63,0
	2006 DAN 2007	ISOLASI SENYAWA AKTIF AKAR PASAK BUMI (<i>Eurycoma longifolia</i> Jack), UJI AKTIVITAS ANTIPLASMODIUM DAN SITOTOKSIK <i>IN VITRO</i> , MEKANISME AKSI, UJI TOKSISITAS AKUT PADA HEWAN COBA, SERTA UJI GENOTOKSISITAS (Anggota)	RISBIN IPTEKDOK	150,0

D. Pengalaman Pengabdian Kepada Masyarakat Dalam 5 Tahun Terakhir

No	Tahun	Judul Pengabdian	Pendanaan	
			Sumber	Jml (Juta Rp)
1	2013	Penggunaan Obat yang Baik	Masyarakat dan mandiri	1.500.000

2	2012	Ayo gosok gigi	Sekolah / Masyarakat	2.000.000
3	2011	Jajanan sehat, penting bagi anak	Sekolah / Masyarakat	1.500.000

E. Pengalaman Penulisan Artikel Ilmiah dalam 5 tahun terakhir

No	Judul Artikel Ilmiah	Vol/No tahun	Nama Jurnal
1	Stage specificity of Pasak bumi root (<i>Eurycoma longifolia</i> Jack) isolate on Plasmodium falciparum cycles	63/2008 Suppl A, 98-99	Med J Malaysia
2	UJI SITOTOKSISITAS, ANTIPROLIFERATIF, DAN PENGARUHNYA TERHADAP EKSPRESI P53 DAN BCL2 DARI FRAKSI ETANOL INFUSA DAUN TEH (<i>Camellia sinensis</i> (L.) O.K.) TERHADAP SEL HeLa	16 (1)	MOT, Farmasi UGM, 2012
3	UJI SITOTOKSITAS DAN ANTIPROLIFERATIF SEL KANKER PAYUDARA T47D DAN SEL VERO BIJI <i>Nigella sativa</i> , L.	2(2)	Farmasiana, 2012, Jurnal Farmasi UAD

F. Pengalaman Penyampaian Makalah Secara Oral Pada Pertemuan / Seminar Ilmiah Dalam 5 Tahun Terakhir

No	Nama Pertemuan Ilmiah / Seminar	Judul Artikel Ilmiah	Waktu dan Tempat
1	Prosiding Seminar Nasional Tanaman Obat Indonesia Sinergi Antara Obat Herbal Dan Obat Sintesis Dalam Optimalisasi	Efek Anti Proliferatif Ekstrak Etanol Serta Hasil Fraksinasi Ekstrak Etanol yang Larut dan Tak Larut Kloroform Sediaan Benalu Teh Terhadap Sel HeLa	UAD, Mei 2008

	Terapi		
2	Prosiding Seminar Nasional Tanaman Obat Indonesia Sinergi Antara Obat Herbal Dan Obat Sintesis Dalam Optimalisasi Terapi	Efek Kemopreventif Fraksi Etanol dari Infusa Daun Sambiloto (<i>Andrographis paniculata</i> Nees) Terhadap Kanker Payudara Tikus yang diinduksi 7,12-Dimethylbenz(a)antrasen(DMBA)	UAD, Mei 2008
3	The International Seminar on Chemoprevention for Health Promotion and Beauty	The inhibition of CYP 1A1 Expression in Mice By Eurycomanon	9 Oktober 2010, F. Farmasi UG
4	WISDOM 2010 (World Conference on Culture, Education, and Science)	The inhibition of COX-2 and CASPASE - 3 Expression in Mice By Eurycomanon	5-8 desember 2010, UGM
5	2nd internasional joint symposium the internasional conference on developmenevelo pment from natural resources	Molecular mechanism of cytotoxic activity of pasak bumi isolate (<i>Eurycoma longifolia</i> , Jack.) on T47D cell line	17-18 november 2011, FK UGM
6	2nd internasional joint symposium Frontier In Biomedical Sciences: From Genes to Applications	Physical Properties And Skin Irritation Testing Of Cream And Hydrophilic Oinment of <i>Eurycoma longifolia</i> Jack Extract	17-18 November 2011, FK UGM
7	ICDDNR	The inhibition of CYP 1A1 Expression in	Jambuluwuk UAD

		Mice By Melatonin	YK, 30 Juni 2012
8	The International Conference on Drug Development from Natural Resources	Isolation And Larvacidal Activity of Essential Oil Mango Turmeric Rhizomes (<i>Curcuma Mangga</i> , Val.) Against Larvae of <i>Aedes Aegypti</i> Mosquitoes Also Gas Chromatogram-Mass Spectrometry Profile	Jambuluwuk UAD YK, 30 Juni 2012
9	The International Conference on Safety Management Of Central Cytotoxic Reconstitution In Pharmacy Practice	Antioxidant Activity Assay of Etanolic Extract Of Sirsak (<i>Annona muricata</i> L)	UAD dan Bethesda YK, 25,26 dan 27 Mei 2013
10	The International Conference on Safety Management Of Central Cytotoxic Reconstitution In Pharmacy Practice	Anti Convulsant Effect of Ethyl Acetate Fraction and Unsolved Ethyl Acetate Fraction from Sirsak Leaf (<i>Annona muricata</i> , L.) on Pentylentertazol induced in Mice	UAD dan Bethesda YK, 25,26 dan 27 Mei 2013
11	The International Conference on Safety Management Of Central Cytotoxic Reconstitution In Pharmacy Practice	Anti Convulsant Effect of Centella asiatica Fractions and Hispatology Study of Liver anda Kidney	UAD dan Bethesda YK, 25,26 dan 27 Mei 2013
12	International Conference on Restorative Justice Consumer Protection “ Law and Pharmacy Perspectives”	Analysis of The Growth and Morphology Cell Change of Propionibacterium Acnes Bacteria By Ethanol Binahong (<i>Anrederacordifolia (Ten.) stenis</i>) Leaves Extract and Saponin Compound Analysis	UAD dan Bethesda YK, 25,26 dan 27 Mei 2013
13	International Conference on Restorative	Extraction Option Ethanol-Water for Eurycomanon Concentration on Pasak Bumi Root With Simplex Lattice Design	UAD dan Bethesda YK, 25,26 dan 27

	Justice Consumer Protection “ Law and Pharmacy Perspectives”	Method	Mei 2013
--	--	--------	----------

G. Pengalaman Penulisan Buku dalam 5 Tahun Terakhir

No	Judul Buku	Tahun	Jumlah Halaman	Penerbit
1				

H. Pengalaman Perolehan HKI Dalam 5 – 10 Tahun Terakhir

No	Judul/Tema HKI	Tahun	Jenis	Nomor P/ID

I. Pengalaman Merumuskan Kebijakan Publik/Rekayasa Sosial Lainnya Dalam 5 Tahun Terakhir

No	Judul/Tema/Jenis Rekayasa Sosial Lainnya yang Telah Diterapkan	Tahun	Tempat	Penerapan Respons Masyarakat

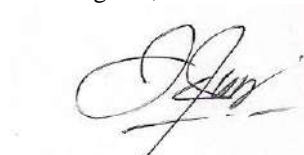
J. Penghargaan yang Pernah Diraih dalam 10 tahun Terakhir (dari pemerintah, asosiasi atau institusi lainnya)

No	Jenis Penghargaan	Institusi Pemberi Penghargaan	Tahun
1	Dosen Berprestasi tahun 2008 tingkat Universitas	UAD, Rektor	2008
2	Dosen Berprestasi tahun 2009 tingkat Universitas	UAD, Rektor	2009
3	Dosen Berprestasi Penelitian tingkat Fakultas Tahun 2010	Fakultas Farnasi, Dekan	2010

Semua data yang saya isikan dan tercantum dalam biodata ini adalah benar dan dapat dipertanggungjawabkan secara hukum. Apabila di kemudian hari ternyata dijumpai ketidaksesuaian dengan kenyataan, saya sanggup menerima risikonya.

Demikian biodata ini saya buat dengan sebenarnya untuk memenuhi salah satu persyaratan dalam pengajuan Hibah Penelitian Tim Pascasarjana

Yogyakarta, 20 April 2013
Pengusul,



Dr. Laela Hayu Nurani, M.Si., Apt
NIDN / NIY: 0520097501 /60990195

Biodata Anggota Pengusul I

1	Nama Lengkap (dengan gelar)	Prof. Dr. Abdul Rohman, M.Si., Apt
2	Jenis Kelamin	L
3	Jabatan Fungsional	Guru Besar
4	NIP	197701202005011002
5	NIDN	0020017705
6	Tempat, Tanggal Lahir	Pati, 20 Januari 1977
7	E-mail	abdulkimfar@gmail.com
8	Nomor Telepon/HP	087838445216
9	Alamat Kantor	Bagian Kimia Farmasi, Fakultas Farmasi UGM
10	Nomor Telepon/Faks	0274-543120
11	Lulusan yang Telah Dihasilkan	S-1 = 50 orang; S-2 = 5 orang; S-3 = - orang
12	Nomor Telepon/Faks	0274-543120
13	Mata Kuliah yang Diampu	Analisis Farmasi (S2, 2 sks)
		Analisis Farmasi (S1, 2 sks)
		Jaminan Kualitas Obat dan Makanan (S2, 2 sks)
		Kimia Analisis I (S1, 2 sks)

B. Riwayat Pendidikan

2.1. Program:	S1	S2	S3
2.2. Nama PT	UGM	UGM	Universiti Putra malaysia
2.3. Bidang Ilmu	Ilmu Farmasi	Ilmu Farmasi	Analisis Halal
2.4. Tahun Masuk	1998	2004	2008
2.5. Tahun Lulus	2002	2006	2010
2.6. Judul Skripsi/ Tesis	Pengaruh pentagamavunon terhadap aktivitas enzim glutathione S-transferase	Pelacakan antioksidan mengkudu (Morinda citrifolia L)	Application of FTIR spectroscopy for analysis, authentication and monitoring oxidative stability of edible fats and oils
2.7. Nama Pembimbing	Prof. Dr. Sudibyo Martono	Prof. Dr. Sugeng Riyanto	Prof. Dr. Y.B. Che Man

C. Pengalaman Penelitian Dalam 5 Tahun Terakhir

No.	Tahun	Judul Penelitian	Pendanaan	
			Sumber	Jml (Juta Rp)
1	2015	Pengembangan Metode Deteksi Unsur Babi pada Kulit Rambak dengan Real Time PCR dan FTIR untuk Menentukan Status Kehalalan	PUPT-Desentralisasi, Dikti	110
2	2014-2015	Pengembangan Metode Analisis Fisika-Kimia dan Biologi Molekuler untuk Mendukung Autentikasi Halal Produk Makanan dan Kosmetika	PUPT-Desentralisasi, Dikti	538
3	2014	Autentikasi dan Karakterisasi Minyak Buah Alpukat	Fakultas Farmasi UGM	25
4	2013	Standardisasi Ekstrak Kunyit (<i>Curcuma longa L.</i>) secara Spektrofotometri Inframerah dan Kromatografi	PUPT-Desentralisasi, Dikti	100
5	2011-2012	Rancang Bangun Instrumen Deteksi Cepat Lemak dan Gelatin Babi dalam Produk Makanan dan Kosmetik dengan Electronic Nose Terkopel Kromatografi Gas untuk Autentikasi Halal	Rusnas, Dikti	700
6	2011	Desain primer spesifik untuk identifikasi daging babi untuk autentikasi halal	Dikti	50
7	2011	Karakterisasi dan autentikasi minyak buah merah	Dikti	50

D. Pengalaman Pengabdian Kepada Masyarakat dalam 5 Tahun Terakhir

No.	Tahun	Judul Pengabdian Kepada Masyarakat	Pendanaan	
			Sumber	Jml (Juta Rp)
1	2012	Menuji sertifikasi halal bagi UMKM	LPPT-UGM	5
2	2012	Menuji sertifikasi halal bagi UMKM	LPPT-UGM	5

E. Publikasi Artikel Ilmiah Dalam Jurnal dalam 5 Tahun Terakhir

No.	Judul Artikel Ilmiah	Nama Jurnal	Volume/Nomor/Tahun
1	The employment of FTIR spectroscopy in combination with chemometrics for Analysis of Rat's Meat in Meatball formulation.	Meat Science	100: 301–305; 2015.
2	Liquid Chromatography with UV detection for Simultaneous determination of ciprofloxacin and metronidazol	Jurnal Teknologi	72:1 45–47; 2015
3	The use of Fourier transform infrared spectroscopy in combination with partial least square for authentication of black seed oil.	International Journal of Food Properties	18:775–784; 2015
4	Effect of Sodium Iron EDTA Fortification in Tempe in Serum Iron and Ferritin Level of Anemic Female Wistar Rats.	Pakistan Journal of Nutrition	14 (2): 88-93; 2015
5	Identification of pork contamination in meatballs of indonesia local market using polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism (PCR-RFLP) analysis.	Asian Australas. J. Anim. Sci.	27(10): 1487-1492; 2014
6	The use of FTIR spectroscopy in combination with chemometrics for the authentication of red fruit.	<i>Food Bioscience</i>	7, 64-70; 2014
7	Quantification of lard in the mixture with olive oil in cream cosmetics based on FTIR spectra and chemometrics	Jurnal Teknologi	69:1, 113–119; 2014
8	Analysis of Lard in Meatball Broth Using Fourier Transform Infrared Spectroscopy and Chemometrics.	Meat Science	96: 94 – 98; 2014
9	Simultaneous quantitative analysis of red fruit oil and sesame oil using FTIR spectroscopy and multivariate calibrations	International Food Research Journal	20(1): 357-361; 2013.
10	Analysis of Canola Oil in Virgin Coconut Oil Using FTIR Spectroscopy and Chemometrics	<i>Journal of Food and Pharmaceutical Sciences.</i>	1(1): 5 – 9; 2013
11	Application of FTIR spectroscopy for monitoring the oxidative stabilities of vegetable oils.	International Journal of Food Properties.	2013; DOI:10.1080/-10942912.2011.603874)
12	Authentication of extra virgin olive oil from sesame oil using FTIR spectroscopy and gas chromatography	International Journal of Food Properties.	15: 1309-1318; 2012

13	Differentiation between porcine and bovine gelatin in commercial capsule shells based on amino acid profiles and principal component analysis	Indonesian Journal of Pharmacy	23(2): 104 -109; 2013
14	Quantitative Analysis of Lard in Lotion Cosmetics Formulation Using FTIR Spectroscopy And Partial Least Square Calibration	Journal of the American Oil Chemists' Society.	89:1537–1543; 2012
15	Validation of mercury analyzer for determination of mercury in snake fruit.	International Food Research Journal.	19 (3): 933-936; 2012
16	Analysis of curcuminoids in food and pharmaceutical products	International Food Research Journal	19(1): 19 -27; 2012
17	Authentication of functional food oils Fourier transformed infrared spectroscopy	Applied Spectroscopy Reviews	47(1) 1-13; 2012
18	Analysis of Pig derivatives for Halal Authentication Studies	Food Review International	28(1): 97-112
19	The chemometrics approach applied to ftir spectral data for analysis of rice bran oil in extra virgin olive oil	Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems	110: 129–134; 2012
20	The Employment of FTIR Spectroscopy and Chemometrics for Classification and Quantification of Mutton Fat in Cod Liver Oil	Journal Food Technology	7(3): 151 – 159; 2012
21	Quantification and Classification of Corn and Sunflower Oils as adulterants in Olive Oil Using Chemometrics and FTIR Spectra	The Scientific world Journal	12: 1-6; 2012
22	Differentiation of Lard and Other Animal Fats Based on Triacylglycerols Composition and Principal Component Analysis	International Food Research Journal	19(2): 475-479; 2012
23	Characterization of red fruit (<i>Pandanus conoideus</i> Lam) oil	<i>International Food Research Journal</i>	19(2): 563-567; 2012
24	Analysis of pork adulteration in beef meatball using Fourier transform infrared (FTIR) spectroscopy	<i>Meat Science</i>	88: 91 – 95; 2011
25	The use of Fourier transform mid infrared (Ft-Mir) spectroscopy for detection and quantification of adulteration in virgin	<i>Food Chemistry</i>	129(2): 583-588; 2011

	coconut oil		
26	FTIR spectroscopy combined with chemometrics for Authentication of Cod liver oil	<i>Vibrational Spectroscopy</i>	55(2): 141- 145; 2011
27	Determination of sodium fatty acid in soap formulation using Fourier transform infrared (FTIR) spectroscopy and multivariate calibrations	<i>Journal Surfactants and Detergents</i>	14: 9 – 14; 2011
28	Differentiation of lard from other edible oils by means of Fourier transform infrared spectroscopy and chemometrics	<i>Journal of the American Oil Chemists' Society</i>	88: 187 – 192; 2011
29	Application of gas chromatography and FTIR spectroscopy for analysis of palm oil in adulterated sesame oil	<i>European Journal of Lipid Science and Technology</i>	133: 522 – 527; 2011
30	Monitoring the oxidative stability of virgin coconut oil (VCO) during oven test using chemical indexes and FTIR spectroscopy	<i>International Food Research Journal.</i>	18: 303 – 310; 2011
31	FTIR spectroscopy combined with chemometrics for analysis of cod liver oil in binary mixture with corn oil	<i>International Food Research Journal</i>	18: 736 – 740; 2011
32	The feasibility of FTIR-ATR spectroscopic method for determination of selected oils in ternary mixture systems	<i>Food Analytical Methods</i>	4(2): 155 – 162; 2011
33	The optimization of FTIR spectroscopy combined with partial least square for analysis of animal fats in quaternary mixtures.	<i>Spectroscopy-Biomedical Application</i>	3-4: 169 – 176; 2011
34	Application of ftir spectroscopy coupled with chemometrics for authentication of <i>Nigella sativa</i> seed oil.	Spectroscopy - Biomedical Applications	25(5): 243-250; 2011
35	. FTIR spectroscopy combined with chemometrics for analysis of lard adulteration in some vegetable oils.	<i>Cyta-Journal of Food.</i>	9(2): 96 – 101; 2011
36	Analysis of Lard in Cream Cosmetics Formulations using FT-IR Spectroscopy and Chemometrics.	Middle-East Journal of Scientific	Research 7 (5): 726-732; 2011
37	Simultaneous quantitative analysis of two functional food oils, extra virgin olive oil and virgin coconut oil using ftir spectroscopy and multivariate calibration	International Food Research Journal.	18(4): 1231-1235; 2011
37	Discriminant analysis of fats and oils	Food Analytical	4(3):404 – 409; 2011

	using FTIR spectroscopy for Halal analysis.	Methods	
38	Application of Fast Chromatography and Fourier transform infrared spectroscopy for analysis of lard adulteration in virgin coconut oil.	Food Analytical Methods	4(3): 365-372; 2011
39	Authentication Analysis of Red Fruit (<i>Pandanus conoideus</i> Lam) oil using FTIR spectroscopy in combination with chemometrics.	Phytochemical Analysis.	22(5): 462 – 467; 2011
40	Detection of lard in vegetable oils.	Lipid Technology	23(8): 180-182; 2011
41	Analysis of chicken fat as adulterant in cod-liver oil using FTIR spectroscopy and chemometrics.	Cyta-Journal of Food.	9(3): 187-191; 2011
42	Authentication analysis of cod liver oil from beef fat using fatty acid composition and FTIR spectra.	Food Additives and Contaminants.	28(11):1469-74; 2011
43	Determination of extra virgin olive oil in quaternary mixture using FTIR spectroscopy and multivariate calibration.	Spectroscopy-an international journal.	26(3): 203-211; 2011
44	Fourier transform infrared (FTIR) spectroscopy for analysis of extra virgin olive oil adulterated with palm oil.	<i>Food Research International</i>	43: 886 – 892; 2010
45	Application of Fourier Transform Infrared (FTIR) spectroscopy for determination of virgin coconut oil (VCO) in binary mixture with palm oil and olive oil.	<i>Journal of the American Oil Chemists' Society.</i>	87: 601 – 606; 2010
46	Antioxidant activity, total phenolic, and total flavonoid of extracts and fractions of red fruit (<i>Pandanus conoideus</i> Lam).	<i>International Food Research Journal</i>	17:97-106; 2010
47	FTIR spectroscopy combined with chemometrics for analysis of lard in the mixtures with body fats of lamb, cow, and chicken.	<i>International Food Research Journal</i>	17: 519 – 527; 2010
48	Analysis of cod-liver oil adulteration using Fourier Transform Infrared (FTIR) spectroscopy.	<i>Journal of the American Oil Chemists' Society,</i>	86, 1149-1153; 2009
49	Analysis of water content in soap formulation using Fourier Transform Infrared (FTIR) Spectroscopy.	<i>Journal of Applied Science Research</i>	5(7): 717-721; 2009

F. Pemakalah Seminar Ilmiah (*Oral Presentation*) dalam 5 Tahun Terakhir

No.	Nama Pertemuan Ilmiah / Seminar	Judul Artikel Ilmiah	Waktu dan Tempat
1	Halal Food Seminar	Fourier transform infrared (FTIR) spectroscopy combined multivariate analysis for determination of lard in mixture with body fats of lamb, cow, and chicken	2010; Malaysia
2	Halal seminar	Application of FTIR spectroscopy for the determination of virgin coconut oil in binary mixtures with olive oil and palm oil	2009; malaysia

G. Karya Buku dalam 5 Tahun Terakhir

No.	Judul Buku	Tahun	Jumlah Halaman	Penerbit	ISBN
1	Spektroskopi vibrasional untuk analisis farmasi	2014	119	Gajah Mada University Press	979-420-909-0
2	Validasi metode dan Penjaminan Mutu Analisis Kimia	2013	251	Gajah Mada University Press	979-420-854-X
3	Analisis Farmasi	2012	550	Pustaka Pelajar	9786-0222-91244
4	Pengembangan dan Analisis produk Halal	2012	150	Pustaka Pelajar	9786-0222-91626
5	Analisis Komponen Makanan	2011	310	Pustaka Pelajar	9786-0290-33755

H. Penghargaandalam 10 Tahun Terakhir

No.	Jenis Penghargaan	Institusi Pemberi Penghargaan	Tahun
1	Prosper.Net-Young Scientist Scopus award in Sustainable Agriculture	Prosper.Net dan Scopus	2014
2	Anugerah Kekayaan Intelektual Luar Biasa (AKIL) 2014 untuk kategori Karya Cipta Ilmu Pengetahuan (Publikasi)	Kemenristek Dikti, Republik Indonesia	2014
3	Penulis publikasi Internasional terindeks Scopus dengan tingkat sitasi terbaik di UGM	UGM	2013
4	Insan Berprestasi Universitas Gajah Mada 2007 dalam bidang penyiapan laboratorium terstandarisasi ISO 17025: 2005	UGM	2007

Semua data yang saya isikan dan tercantum dalam biodata ini adalah benar dan dapat dipertanggungjawabkan secara hukum. Apabila di kemudian hari ternyata dijumpai ketidak-sesuaian dengan kenyataan, saya sanggup menerima sanksi.

Yogyakarta, Oktober 2016

Pengusul,

Prof. Dr. Abdul Rohman, M.Si., Apt

Biodata Anggota Pengusul II

A. Identitas Diri

1	Nama Lengkap	Drh Sitarina Widyarini MP, PhD
2	Jabatan Fungsional	Lektor Kepala. Gol. IVb
3	Jabatan Struktural	-
4	NIP	196609161992032001
5	NIDN	0016096602
6	Tempat tanggal Lahir	Surakarta 16 September 1966
7	Alamat Rumah	Jl. Seturan Raya Blok E1 No.1 Seturan CT, Yogyakarta
8	Nomor Telepon	081329209376
9	Alamat Kantor	Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Gadjah Mada, Jl Fauna No.2 Karang Malang, Yogyakarta
10	Nomor Telepon/Faks	0274-560862/ 0274-560861
11	Alamat e-mail	sitarina@ugm.ac.id
12	Lulusan yang Telah Dihasilkan (dalam 5 Tahun Terakhir)	S1: 25 mahasiswa, S2: 5 mahasiswa, S3: 7 mahasiswa
13	Mata Kuliah yang Diampu	Patologi Umum Veteriner (S1) Patologi Sistemik Veteriner (S1) Nekropsi Veteriner (S1) Ilmu Penyakit Ikan dan Udang (S1) Patologi Lanjut I (S2) Patologi Lanjut II (S2) Onkogenesis (S3) Tehnologi Analisis Genotoksik (S3) Toksikologi Patologi (S3)

B. Riwayat Pendidikan

	S1	S2	S3
Nama Perguruan Tinggi	Universitas Gadjah Mada, Indonesia	Universitas Gadjah Mada, Indonesia	Sydney University, NSW, Australia
Bidang Ilmu	Kedokteran Hewan	Sain Veteriner/ Biopatologi	Veterinary Science
Tahun Masuk-Lulus	1985-1989	1992-1994	1998-2003
Judul Skripsi/Thesis/Disertasi	Titer HI pada Ayam Broiler yang divaksinasi melalui pakan	Evaluasi Efek Interaksi Diet Vitamin A dan Asam Tanat terhadap Pertumbuhan Tumor Paru Pada Mencit yang Diinduksi BP	Role Isoflavone in Skin Cancer
Nama Pembimbing/Promotor	Drs. B. Sardjono, MSc	Drh. Darjono, Msc. PhD Drs. Sugiyanto, Apt, SU, PhD	Prof. Alan Husband PhD VE. Reeve, PhD

C. Pengalaman Penelitian Dalam 5 Tahun Terakhir

No.	Tahun	Judul Penelitian	Sumber	Dana (Juta)
1	2008	Studi Eksperimental Penuaan Dini Pada Kulit Akibat Paparan Sinar Ultraviolet B dengan menggunakan Mencit Balb/C Sebagai Hewan Model	Hibah Penelitian Fakultas Kedokteran Hewan	10
2	2009	Pasteurellosis Pada Babi Berdasarkan Histopatologis dan Identifikasi Bakteri di DIY	Hibah Fakultas Kedokteran Hewan	3
3	2009	Pengembangan Sediaan Madu Super Propolis Sebagai Immunomulator Tersandart pada Model Kanker Payudara	Hibah Riset Unggulan Strategis Nasional (RUSNAS-UGM)	150
4	2009	Efek Pemberian Jahe Terhadap Kondisi Mikroorganisme Di Saluran Pencernaan Ayam Broiler	Hibah Kompetitif Penelitian Sesuai Prioritas Nasional	80
5	2010	Studi Patologis Cytopathological Effect Bovine Herpesvirus 1 Penyebab Infectious Bovine Rhinotracheitis dari Sapi Pada Telur Ayam Berembrio, Anggota Peneliti	Hibah Penelitian Kompetisi Fakultas FKH-UGM	10
6	2010	Kajian Bioaktif Antikanker Buah Merah: Pengaruh Fraksi Buah Merah (<i>Pandanus conoideus</i> Lamk) terhadap kanker payudara pada model mencit C3H	Deptan Tahun ke-3	100
7	2011	Studi in ovo dan in vivo dalam usaha pengembangan herbal terstandar ekstrak jahe (<i>Zingiber officinale roscoe</i>) sebagai antiviral avian influenza dan <i>newcastle disease</i>	Hibah Penelitian Stranas	80
8	2011	Pengaruh bawang putih campur pakan terhadap infeksi <i>Pseudomonas anguilliseptica</i> pada ikan mas secara histopatologi yang berbeda proses	Hibah Penelitian Pengembangan Bagian FKH-UGM	3
9	2012	Evaluasi Klinis Patologis dan Terapi Dermatofitosis Pada Anjing	Penelitian Fundamental Tahun Kedua UGM	100

D. Pengalaman Pengabdian Kepada Masyarakat Dalam 5 Tahun Terakhir

No.	Tahun	Judul Pengabdian Kepada Masyarakat	Sumber	Dana
1	2009	Program Penerapan IPTEKS pada Masyarakat dengan tema "Pendampingan Kelompok Ternak Brajagama dalam Manajemen Peternakan Terpadu"	Lembaga Penelitian dan Pengabdian kepada Masyarakat Universitas Gadjah Mada	75
2	2009	<i>Road map</i> pengolahan dan pemasaran hasil peternakan komoditas daging provinsi Daerah Istimewa Yogyakarta Tahun 2009-2013.	Kerja sama dengan Dinas pertanian Provinsi Daerah Istimewa Yogyakarta dan Lembaga Penelitian dan Pengabdian Kepada Masyarakat (LPPM) Universitas Gajah Mada	100
3	2009	<i>Road map</i> pengolahan dan pemasaran hasil peternakan komoditas susu provinsi Daerah Istimewa Yogyakarta Tahun 2009-2013.	Kerja sama dengan Dinas pertanian Provinsi Daerah Istimewa Yogyakarta dan Lembaga Penelitian dan Pengabdian Kepada Masyarakat (LPPM) Universitas Gajah Mada	100
4	2010	Diagnosa Penyakit Yang Sering Menyerang Merpati (<i>Columba livia</i>) di DIY,	Pengabdian Kepada Masyarakat FKH-UGM	2
5	2010	Evaluasi Program LM3, Ditjen PPHP di DIY dan 7 Kabupaten/Kota Di Jawa Tengah (2005-2009)	Lemlit UGM	75
6	2011	Monitoring Penyakit Rabies Pada Anjing Piara Di Yogyakarta Tahun 2010,	Laporan Pengabdian Kepada Masyarakat Bagian Mikrobiologi FKH-UGM	2
7	2012	Penyuluhan Pengendalian Penyakit Gumboro Pada Peternakan Ayam di Kabupaten Sleman, DIY	Pengabdian Kepada Masyarakat Bagian Patologi FKH-UGM	2

E. Pengalaman Penulisan Artikel Ilmiah dalam 5 Tahun Terakhir

No.	Judul Artikel Ilmiah	Vol/No. Tahun	Nama Jurnal
1	Efek Kemoprotektif Daun Lidah Mertua (<i>Sansevieria Trifasciata</i>) terhadap Tumor Paru yang Diinduksi Oleh Benzo(A)Piren pada Mencit (<i>Mus Musculus</i>):	Vol: 23:20-24, 2008	<i>MediaKedokteran Hewan</i>
2	Ekspresi p53 Pada Kelenjar Mammae Tikus Galur <i>Sprague Dawley</i> Setelah Inisiasi DMBA dan Pemberian Kemopreventif <i>Gynura procumbens</i>	Vol 24 (3):25-30, 2008	<i>Media Kedokteran Hewan</i>
3	Ekspresi CYP1A1 dan Gstu hepatosit terinduksi DMBA dan pengaruh pemberian ekstrak etanolik <i>Gynura procumbens</i> ,	20(4), 3, 2009	<i>Majalah Farmasi Indonesia</i>
4	Topical isoflavonoids reduce experimental psoriasis-like inflammation in mice	Doi: 10.1038/icb.2010	<i>Immunologi and Cell Biology</i>
5	Dampak Pembuatan Karsinogenesis Glanduka Mammae dengan 7, 12-dimetilbenz(α)antrasen Terhadap Gambaran Histopatologis Lambung Tikus <i>Sprague Dawley</i>	Vol 3 (3): 23-28, 2010	<i>Jurnal Veteriner,</i>
6	Efek pemberian Chitosan dan Cordiceps sinenses terhadap ekspresi protein COX-2 dan Pertumbuhan Tumor Glandula Mammae pada Tikus <i>Sprague Dawley</i> yang diinduksi dengan DMBA	Vol 26 (1) 2010	<i>Media Kedokteran Hewan</i>
7	Efek antihiperqlikemia infusa kangkung darat (<i>ipomoea reptans</i> Poir) terhadap kadar glukosa darah mencit jantan yang diinduksi streptozotocin	Vol. 7(1), 2010	<i>Jurnal Ilmiah Farmasi</i>
8	Histology of Mice Skin Tissue Based On in Vivo Evaluation of Anticancer Extracts of Marine Songe Aaptos Suberitoides	Vol. 22 (1), 2011	<i>The Journal for Technology and Science, IPTEK</i>
9	Efektivitas Pentagamavunon-O Terhadap Penghambatan Ekspresi Siklooksigenase-2 pada Model Kanker Kolon Tikus Wistar,	Vol 6 No. 2, September 2012	<i>Jurnal Kedokteran Hewan</i>
10	Aktivitas Antiviral Minyak atsiri Jahe Merah Terhadap Virus Flue Burung,	Vol 13 No. 9 2012	<i>Jurnal Veteriner</i>
11	Pengaruh Pemberian ekstrak akar pasak bumi terstandar terhadap Gambaran histopatologik testis dan konsentrasi testosteron pada tikus	Vol. 10(1), 2012	<i>Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia</i>
12	Photoimmune protective effect of phytoestrogenic isoflavonoid equol is partially due to its antioxidant activities	Vol 11 No. 1, 2012	<i>Photochemical & Photobiological Science</i>

F. Pengalaman Penyampaian Makalah Secara Oral Pada Pertemuan/ Seminar Ilmiah dalam 5 Tahun Terakhir

No.	Nama Pertemuan Ilmiah/ Seminar	Judul Artikel Ilmiah	Waktu dan Tempat
1	International Joint Symposium Frontier In Biomedical Sciences: From Genes to Application	Antitumour activity of 1, 10-phenanthroline derivates in rat mammary carcinoma model	Fakultas Kedokteran Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta, 2008
2	Seminar on Herbal Medicine.	Efek Kemoprotektif Daun Lidah Mertua (<i>Sansevieria Trifasciata</i>) terhadap Tumor Paru yang Diinduksi Oleh Benzo(A)Piren pada Mencit (<i>Mus Musculus</i>).	Fakultas Kedokteran Universitas Gadjah Mada Yogyakarta, 2008
3	Pendidikan dan Pelatihan Pranata Laboratorium Pendidikan Bidang Human dan Biomedik Level 2: Biosafety	Prinsip Dasar Keamanan Bekerja Dengan Hewan Coba	Direktorat Sumber Daya Manusia UGM, bekerja sama dengan Fakultas Kedokteran UGM, 2011
4	Certified Courses on Bioethics for Health Professional (Humanity-Ethical-Legal-Professional Aspect) (Kursus Basic dan Advandce Bioethics)	Bioethic (HELP) in Medical Health Researches With Animal or Microbes Participants	Center For Bioethics and Medical Humanity, Fakultas Kedokteran Universitas Gadjah Mada, 2012

G. Pengalaman Penulisan Buku dalam 5 Tahun Terakhir

No	Judul Buku	Tahun	Jumlah halaman	Penerbit
1	Etika penggunaan hewan percobaan dalam penelitian biomedis. Dalam Etika penelitian dan publikasi kedokteran kesehatan dan modul pelatihan WHO. penulis bab dalam buku	2008	100	Penerbit Fakultas Kedokteran Universitas Gadjah Mada Yogyakarta, ISBN No. 979-978-3177-60-1,

H. Pengalaman Perolehan HKI Dalam 5-10 Tahun Terakhir

No.	Judul/ Tema HKI	Tahun	Jenis	NomorP/ID

L. Pengalaman Merumuskan Kebijakan Publik/ Rekayasa Sosial Dalam 5 Tahun Terakhir

-

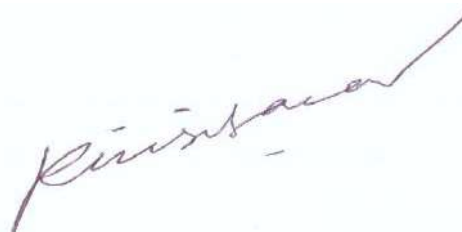
J. Penghargaan yang pernah diraih dalam 10 Tahun Terakhir

No.	Jenis Penghargaan	Institusi Pemberi Penghargaan	Tahun

Semua data yang saya isikan dan tercantum dalam biodata ini adalah benar dan dapat dipertanggungjawabkan secara hukum. Apabila dikemudian hari ternyata dijumpai ketidak-sesuaian dengan kenyataan, saya sanggup menerima resikonya. Demikian biodata ini saya buat dengan sebenarnya untuk memenuhi salah satu persyaratan dalam pengajuan Hibah Penelitian Tim Pascasarjana

Yogyakarta, 23 April 2012

Pengusul,



Drh. Sitarina Widyarini, MP, PhD

Lampiran 3. Penyusunan Artikel

EFEK PEMBERIAN KOMBINASI FRAKSI ETIL ASETATEKSTRAK ETANOL AKAR PASAK BUMI (*Eurycoma longifolia* Jack.) DAN DOXORUBICIN TERHADAP EKSPRESI CASPASE-3, CASPASE-9, Bax, p53 Mutan, COX-2 Dan Ki- 67 PADA KANKER PAYUDARA TIKUS GALUR SPRAGUE DAWLEY

Balqis Hanifa Zahra, Dian Setyani, Suhrah Febrina Karim, Galih Dwi

Mulyati, Tria Zakinah, Laela Hayu Nurani, Sitarina Widyarini

Fakultas Farmasi Universitas Ahmad Dahlan

Kampus III : Jl. Prof. Dr. Soepomo, Janturan, Umbulharjo, Yogyakarta 55164

Email : balqishanifa.bhz@gmail.com; diansetyani1994@gmail.com; triazakinah@gmail.com;
Galih.Dwi.GD@gmail.com; suhrahfebrina@ymail.com

INTISARI

Penggunaan Doxorubicin dapat menyebabkan toksik pada jaringan normal sehingga perlu ko-kemoterapi. Akar pasak bumi adalah tanaman yang memiliki potensi sebagai ko-kemoterapi. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian ko-kemoterapi fraksi etil asetat akar pasak bumi dan Doxorubicin terhadap ekspresi caspase-3, caspase-9, Bax, p53 mutan, COX-2, dan Ki-67 pada jaringan payudara pada tikus yang diinduksi DMBA. Pembuatan ekstrak dilakukan dengan metode maserasi dengan etanol 70%. Pengujian ini dilakukan secara in vivo terhadap 56 tikus SD betina yang dibagi menjadi 8 kelompok. Kelompok 1 sebagai baseline, kelompok 2 diberi ekstrak fraksi etil asetat akar pasak bumi (100 mg/kgBB), kelompok 3 diberi doxorubicin (1,17 mg/kgBB), kelompok 4 diberi DMBA (20 mg/kgBB), kelompok 5 diberi DMBA dan ekstrak, kelompok 6 diberi DMBA dan doxorubicin, kelompok 7 diberi DMBA, doxorubicin, dan ekstrak, serta kelompok 8 diberi doxorubicin dan ekstrak. Induksi DMBA diberikan selama 5 minggu sebanyak 2 kali seminggu, doxorubicin selama 5 minggu sebanyak satu minggu sekali, dan ekstrak diberikan setiap hari. Setelah 16 minggu tikus dibunuh dan diambil organ payudaranya untuk dilakukan uji imunohistokimia dan dianalisis menggunakan SPSS.

Hasil penelitian menunjukkan adanya peningkatan ekspresi caspase-9 pada kelompok sampel sehingga dapat meningkatkan ekspresi Caspase-3, Caspase-9, Bax dan menurunkan p53 mutan, COX-2, Ki-67 pada tikus yang diberikan doxorubicin dan diinduksi DMBA.

Kata Kunci: 7,12-Dimethylbenz(a)antrasen, *Eurycoma longifolia* Jack, Caspase-3, Caspase-9, Bax, p53 mutan, COX-2, Ki-67, Doxorubicin.

PENDAHULUAN

Berdasarkan data dari IARC (*International Agency for Research on Cancer*), pada tahun 2002 kanker payudara menempati urutan pertama dari seluruh kanker pada perempuan (*incident rate* 38 per 100.000 perempuan) dengan kasus baru sebesar 22,7% dan jumlah kematian 14% per tahun dari seluruh kanker pada perempuan di dunia (Jemal *et al.*, 2011). Kanker dapat terjadi dengan adanya senyawa karsinogen seperti 7,12-*dimetilbenz(a)antrasen* (DMBA) yang dapat menginduksi terjadinya kanker dengan mekanisme mengubah DNA menjadi *DNA adduct* yang stabil melalui jalur epoksida dihidrodiol (Bajak, 2005).

Doxorubicin merupakan antibiotik golongan antrasiklin yang mempunyai aktivitas sebagai agen sitotoksik. Antibiotik golongan antrasiklin mempunyai efek samping yaitu menyebabkan kardiotoxik dengan terbentuknya radikal bebas dan menyebabkan kerusakan DNA serta kerusakan hati (Arafa, 2005). *Doxorubicin* menginduksi terjadinya apoptosis pada sel tumor

melalui pengaktifan P53 yang diikuti dengan aktifnya inisiator apoptosis yaitu *Caspase-9* untuk mengaktifkan *Caspase-3,6, dan 7* sebagai eksekutor sehingga terjadi apoptosis. Adanya peningkatan ekspresi *Caspase-9* menunjukkan semakin meningkatnya kemampuan sel untuk melakukan apoptosis (Wang, 2004). Mutasi dari gen p53 (*Tumor Suppressor gene*) umum terjadi pada berbagai macam keganasan, salah satunya pada kanker payudara (Lestari *and* Joewarini, 2015). Hilangnya fungsi p53 akibat dari mutasi dapat menimbulkan transformasi keganasan, penyebaran tumor dan resistensi tumor terhadap terapi yang menginduksi kerusakan DNA (Choudhury, *et al.*, 2012). Fungsi utama dari protein p53 untuk penghentian siklus sel dan inisiasi apoptosis yang dipicu oleh kerusakan DNA (Kumar, *et al.*, 2010).

Senyawa 7,12-*dimetylbenz(a)antrasen* (DMBA) akan memicu aktivasi RAS yang akan meningkatkan proliferasi dan menghambat apoptosis. Jalur RAS/MAPK memicu *aktivasi* Protein COX-2 dan akan menginduksi

pembentukan PGE2 dari asam arakidonat yang kemudian merangsang kembali jalur RAS/MAPK yang mengakibatkan peningkatan proliferasi yang ditandai dengan meningkatnya ekspresi Protein Ki-67 (Gandamihardja *et al.*, 2010). Pemberian kombinasi akar pasak bumi dan *doxorubicin* pada sel T47D memiliki efek sinergisme untuk menginduksi apoptosis (Mahfur, 2015). Akar pasak bumi merupakan salah satu agen ko-kemoterapi yang mempunyai kandungan bioaktif sebagai antikanker serta kemopreventif dan imunomodulator. Senyawa bioaktif tersebut di antaranya adalah kuasinoid, flavonoid, dan alkaloid (Nurani *et al.*, 2010). Zat aktif kuasinoid ekstrak akar pasak bumi sebagai antikanker diduga melalui mekanisme pemacuan apoptosis atau penghambatan proliferasi sel kanker dengan melibatkan kerja enzim-enzim antioksidan dan respon imun seluler (Tee *et al.*, 2005).

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui pengaruh pemberian kombinasi fraksi etil asetat ekstrak etanol akar pasak bumi dan

doxorubicin terhadap ekspresi *Caspase-3, Caspase-9, Bax, p53 mutan, COX-2, Ki-67* pada tikus galur *Sprague Dawley* yang diinduksi DMBA sehingga nantinya dapat bermanfaat dalam perkembangan obat tradisional di Indonesia.

METODE PENELITIAN

Bahan

Bahan yang akan digunakan adalah akar pasak bumi, CMC Na 0,5%, *corn oil* (Superindo 365), 7,12 dimetilbenz(a)antrasen (DMBA) 20 mg/KgBB (SIGMA Aldrich), *doxorubicin* (OGB Sanbe 2 mg/ml), etanol 70% (Genera Labora), formaldehid 10%, NaCl fisiologis. Hewan uji yang akan digunakan pada penelitian ini adalah tikus betina galur *SD (Sprague Dawley)* dengan berat badan 100- 200 gram dan berumur 2 bulan (Kubatka *et al.*, 2002).

Alat

Alat-alat yang digunakan adalah *magnetic stirrer* (LABINCO), toples, timbangan analitik (HWH), *rotary evaporator* (Heidolph), seperangkat alat bedah, *oven*

(BindeR), *chamber* (Larrag), *waterbath* (memmert), alat-alat gelas (Pyrex), optilab yang dihubungkan dengan komputer (OLYMPUS DP12).

Jalan Penelitian

1. Pengumpulan Bahan

Akar pasak bumi diperoleh dari Martapura, Kalimantan Selatan kemudian dibuat serbuk dan dikeringkan di Laboratorium Teknologi Sediaan Farmasi UAD.

2. Ekstraksi dan Fraksinasi akar pasak bumi

Serbuk akar pasak bumi dimaserasi dengan etanol 70% menggunakan pengaduk elektrik, maserasi dilakukan selama 3 jam, kemudian didiamkan selama 24 jam. Setelah itu disaring hingga diperoleh filtrat dan rendemen. Filtrat yang ada dikumpulkan dan diuapkan menggunakan *rotary evaporator* kemudian diuapkan di atas *waterbath* pada suhu 70°C sampai diperoleh ekstrak kental (Nurani, 2011).

Sebanyak 50 gram ekstrak etanol difraksi menggunakan 20 mL etil asetat dan dilakukan dengan cara enap tuang sebanyak 5 kali. Fraksinasi dilakukan sampai

senyawa yang harus masuk ke dalam etil asetat tersari semua yang ditunjukkan oleh hasil KLT yang terlihat terpisah antara fraksi larut etil asetat dan tak larut etil asetat. Fraksi kemudian dipekatkan sehingga diperoleh fraksi larut etil asetat dan tak larut etil asetat (Nurani, 2011).

3. Pembuatan Larutan karsinogen 7,12-Dimetilbenz(a)antrasen (DMBA)

Larutan karsinogen DMBA dapat dibuat dengan pelarut minyak jagung (*Corn Oil*). Larutan DMBA kemudian diberikan secara peroral pada hewan uji dengan dosis 20 mg/kgBB selama 5 minggu dengan pemberian 2 kali seminggu. Larutan DMBA selalu dibuat baru, sebelum diberikan kepada hewan uji (Meiyanto *et al.*, 2007).

4. Pembuatan Sampel Uji

Fraksi etil asetat ekstrak etanol akar pasak bumi dilarutkan dalam CMC-Na 0,5%. Pembuatan CMC-Na dilakukan dengan pemanasan campuran CMC-Na dan akuades hingga 100°C yang disertai pengadukan menggunakan *magnetic stirrer* (Nurani, 2011).

5. Pengelompokkan Hewan Uji

Hewan diadaptasikan dalam kandang selama satu minggu sebelum perlakuan dan dipelihara di kandang tikus Laboratorium Farmasi Universitas Ahmad Dahlan Yogyakarta. Hewan uji telah mendapatkan surat persetujuan etik (*Ethical Approval*) dari Komite Etik Penelitian Universitas Ahmad Dahlan (KEP UAD) dengan nomor 01150504.

Tikus betina sehat sejumlah 56 ekor dibagi secara acak dalam 8 kandang. Setiap kandang berisi 7 ekor tikus. Kelompok perlakuan tersebut adalah I. Kelompok normal; II. Fraksi etil asetat ekstrak etanol akar pasak bumi 100 mg/kgBB; III. *Doxorubicin* 1,12 mg/KgBB ; IV. DMBA 20 mg/KgBB; V. DMBA dan *doxorubicin*; VI. DMBA dan fraksi etil asetat ekstrak etanol akar pasak bumi; VII. *Doxorubicin* dan fraksi etil asetat ekstrak etanol akar pasak bumi; VIII. DMBA, *doxorubicin* dan fraksi etil asetat ekstrak etanol akar pasak bumi.

6. Analisis Data

Data yang diperoleh dalam percobaan ini yaitu berupa jumlah sel

yang terekspresi antibodi caspase3, caspase-9, Bax, p53 mutan, COX-2 dan Ki-67, gen yang terekspresi berwarna coklat sedangkan yang tidak terekspresi berwarna ungu atau biru dan jumlah sel keseluruhan. Perhitungan ekspresi protein dihitung sel yang positif berwarna coklat dalam persen dengan cara sebagai berikut.

$$\begin{aligned} \% \text{ Ekspresi Protein} = & \\ & \frac{\text{Jumlah sel yang mengekspresikan protein}}{\text{Jumlah sel keseluruhan}} \\ & \times 100\% \end{aligned}$$

Data yang diperoleh yaitu persen ekspresi protein yang diuji distribusi normalnya dengan *Kolmogorov-Smirnov* dan homogenitasnya dengan uji *Levene* kemudian dilanjutkan dengan uji ANOVA atau *Kruskal Wallis* (taraf kepercayaan 95 %).

HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Identifikasi Akar Pasak Bumi

Bahan utama yang digunakan dalam penelitian ini adalah akar pasak bumi (*Eurycoma longifolia Jack*) yang didapatkan di daerah Martapura, Kalimantan Selatan. Determinasi tanaman dilakukan di Laboratorium Biologi Fakultas

Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam (MIPA) Universitas Ahmad Dahlan Yogyakarta. Hasil determinasi tanaman yang dilakukan terhadap akar pasak bumi adalah sebagai berikut: Famili: *Simarubaceae*, Genus: *Eurycoma*, dan Spesies: *Eurycoma longifolia* Jack. Berdasarkan hasil tersebut maka dapat ditarik kesimpulan bahwa tanaman uji yang digunakan dalam penelitian ini adalah akar pasak bumi (*Eurycoma longifolia* Jack). Akar pasak bumi yang telah diperoleh kemudian diserbuk hingga didapatkan serbuk halus untuk dibuat menjadi ekstrak.

B. Pembuatan Fraksi Etil Asetat Ekstrak Etanol Akar Pasak Bumi

Ekstrak etanol akar pasak bumi yang diperoleh dalam penelitian ini didapatkan dari 4,150 kg serbuk halus akar pasak bumi yang diekstraksi menggunakan pelarut etanol 70% sebanyak 25 liter kemudian diperoleh ekstrak etanol akar pasak bumi sebanyak 121,36 gr dengan rendemen sebesar 2,92%. Pemilihan penggunaan pelarut etanol sebab zat aktif pada akar

pasak bumi yaitu kuasinoid bersifat semi polar dimana akan larut pada etanol 70% (*like dissolved like*) sehingga pemilihan pelarut disesuaikan dengan zat yang akan disari (Kuo *et al.*, 2004).

Pembuatan ekstrak etanol akar pasak bumi menggunakan metode maserasi selama 24 jam. Sebelumnya serbuk akar pasak bumi direndam menggunakan pelarut etanol 70% dan dilakukan pengadukan untuk meratakan pembasahan pada semua lapisan akar pasak bumi supaya penyarian dilakukan dengan sempurna. Ekstrak difraksinasi menggunakan etil asetat. Berdasarkan penelitian Nurani (2011) menyebutkan bahwa fraksi etil asetat akar pasak bumi memiliki nilai ketoksikan lebih tinggi terhadap sel kanker T47D dibandingkan fraksi tidak larut etil asetat dan ekstrak etanol akar pasak bumi.

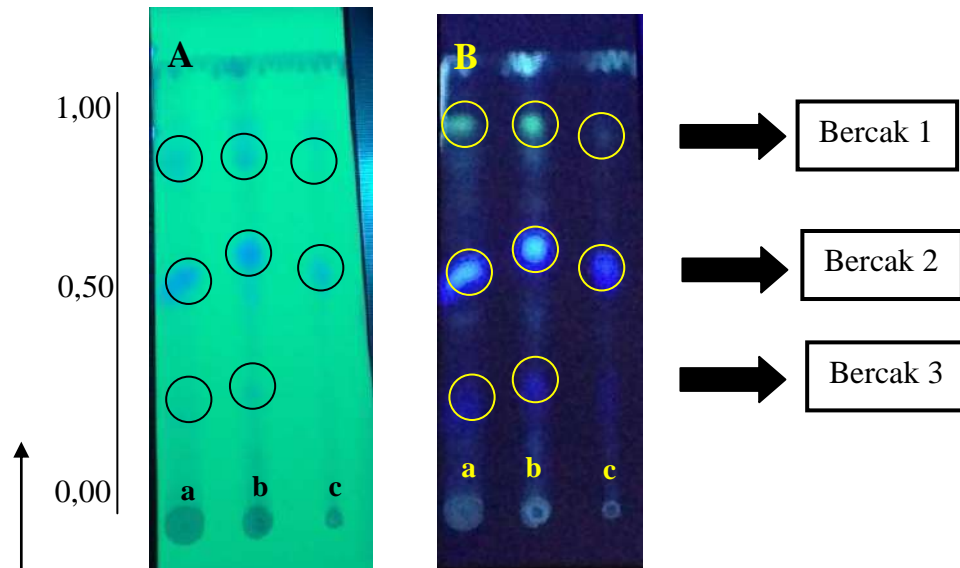
C. Analisis Kualitatif Senyawa Akar Pasak Bumi

Uji KLT dilakukan menggunakan fase diam dan fase gerak untuk eurikomanon dengan membandingkan Rf hasil uji dengan Rf eurikomanon pada penelitian yang

sudah ada. Fase diam yang digunakan adalah Silika Gel F 254 dan fase gerak yang digunakan adalah kloroform:methanol 4:1. Hasil KLT menunjukkan sampel berfluoresensi biru pada UV 254 nm dan berfluoresensi kuning pada UV 366 nm.

Hasil yang didapatkan pada uji KLT ekstrak etanol akar pasak bumi memiliki bercak 2 yang sama tinggi dengan fraksi larut etil asetat ekstrak etanol akar pasak bumi, dengan harga Rf sebesar 0,55. Fraksi tidak larut etil asetat ekstrak etanol

akar pasak bumi pada bercak 1 memiliki harga Rf sebesar 0,59. Hal ini menandakan bahwa ekstrak etanol akar pasak bumi dan fraksi larut etil asetat akar pasak bumi mengandung senyawa eurikomanon dengan Rf 0,55 sesuai dengan penelitian Arifah dan Nurkhasanah (2014). Pada bercak 1, bercak 1a memiliki Rf sebesar 0,75; bercak 1b memiliki Rf sebesar 0,78; dan bercak 1c memiliki Rf sebesar 0,73. Pada bercak 3 memiliki Rf sebesar 0,28 pada bercak 1a dan harga Rf sebesar 0,3 pada bercak 1b.



D. Uji Imunohistokimia

1. Caspase-3, Caspase-9, Bax

Mekanisme molekuler pemberian *doxorubicin* sebagai kemoterapi dan akar pasak bumi

sebagai ko-kemoterapi dilakukan dengan mengamati ekspresi-ekspresi protein *Caspase-3*, *Caspase-9* dan Bax. Protein ini mengatur aktivitas kemoterapi tersebut, baik melalui

pemacuan apoptosis maupun penghambatan proliferasi (Utami, 2010). Salah satu cara yang digunakan untuk mengamati ekspresi protein adalah dengan menggunakan metode imunohistokimia.

Analisis presentase ekspresi *Caspase-3*, *Caspase-9*, *Bax* dihitung dengan cara jumlah sel yang terekspresi dibagi jumlah sel keseluruhan. Hasil perhitungan dapat dilihat pada Tabel I.

Tabel 1. Rerata ekspresi caspase-9±SD dan Caspase-3±SD pada kelompok hewan uji

Kel	Perlakuan	Rata-rata Caspase-9	Rata-rata Caspase-3	Rata-rata Bax
I	Normal (hanya diberi makan dan minum)	65.12 ± 0.57	44,87±1,88	68,82 ± 1,52
II	Ekstrak Akar Pasak Bumi (100 mg/kg BB)	61.79 ± 1.34 ^a	47,48±3,38	
III	<i>Doxorubicin</i> (1,17 mg/kg BB)	63.92 ± 0.23 ^a	52,45±3,20 ^a	
IV	DMBA (20 mg/kg BB)	45.85 ± 1.01	30,67±4,38 _{ab}	26,86 ± 3,25
V	DMBA+ <i>Doxorubicin</i>	55.95 ± 0.95 ^b	42,24±0,94	44,49 ± 2,06
VI	DMBA+Ekstrak Akar Pasak Bumi	55.75 ± 1.51 ^b	38,52±2,28 ^b	80,92 ± 3,27
VII	DMBA+ <i>Doxorubicin</i> +Ekstrak Akar Pasak Bumi	62.69 ± 1.98	63,91±2,34 ^b	78,70 ± 4,87
VIII	<i>Doxorubicin</i> +Ekstrak Akar Pasak Bumi	62.88 ± 2.09	42,38±2,10	

Keterangan :

^a : terjadi perbedaan yang signifikan terhadap kelompok normal

^b : terjadi perbedaan yang signifikan terhadap kelompok DMBA+*Doxorubicin*+Ekstrak Akar Pasak Bumi

Untuk mengetahui ekspresi *Caspase-9* dilakukan perhitungan menggunakan SPSS 16. Uji data distribusi normal menggunakan uji Kolmogorov Smirnov. Uji Kolmogorov Smirnov memiliki nilai signifikansi 0,132 ($p > 0,05$) sehingga menunjukkan hasil data terdistribusi normal. Untuk mengetahui homogenitas data dilakukan uji Levene. Hasil menunjukkan nilai signifikansi 0,057 ($p > 0,05$) sehingga menunjukkan hasil data homogen. Uji ANOVA dilakukan untuk mengetahui perbandingan nilai signifikansi pada masing-masing kelompok perlakuan.

Hasil pengecatan pada kelompok normal memiliki ekspresi *Caspase-9* lebih banyak daripada kelompok DMBA. Kelompok DMBA memiliki persen ekspresi yang lebih sedikit dibandingkan kelompok normal dengan nilai signifikansi 0,000 ($p < 0,05$). Kontrol DMBA memiliki persen ekspresi *caspase-3* yang lebih sedikit dibandingkan kelompok normal ($p < 0,05$). Kelompok DMBA merupakan kelompok yang diberi senyawa karsinogen sehingga

apoptosis mengalami penurunan. Pada sel kanker terjadi gangguan keseimbangan antara proliferasi dan apoptosis (Ruddon, 2007).

Doxorubicin mengaktivasi nitrogen yang diaktivasi protein kinase (MAPKs), p38 dan JNK, dan meningkatkan apoptosis kardiomyosit dengan mengurangi level dari ekspresi protein anti apoptosis seperti Bcl-2 dan meningkatkan level ekspresi dari protein pro apoptosis seperti Bax 3 (Shi *et al.*, 2011 ; Zhivotovsky *et al.*, 2006). *Doxorubicin* merupakan obat kemoterapi kanker yang memiliki mekanisme kerja mengurangi terjadinya proliferasi sel dan menginduksi apoptosis dengan mengaktifkan P53 yang diikuti dengan aktifnya *Caspase-3*. *Caspase-3* diaktifkan oleh inisiator apoptosis yaitu *Caspase-9* (Wang *et al.*, 2004). Peran *doxorubicin* dalam menginduksi apoptosis dapat dilihat pada kelompok *doxorubicin*. *Doxorubicin* mengalami peningkatan ekspresi *caspase-3* dibandingkan kelompok normal yang berarti *doxorubicin* memacu terjadinya apoptosis pada sel normal, karena

pada penelitian ini hewan uji tidak diinduksi senyawa karsinogen.

Untuk mengurangi efek samping akibat penggunaan *doxorubicin*, diperlukan suatu ko-kemoterapi. Hasil penelitian menunjukkan adanya perbedaan bermakna ($p < 0,05$) pada kelompok fraksi etil asetat ekstrak etanol akar pasak bumi dibandingkan kelompok normal dengan nilai signifikansi sebesar 0,002. Kelompok normal dan kelompok akar pasak bumi memiliki persen ekspresi *Caspase-9* dan *Caspase-3* yang cukup tinggi. Akar pasak bumi memiliki kandungan zat aktif eurikomanon yang memiliki efek sitotoksik terhadap sel HeLa dengan aktivitas antiproliferatif dan pemacuan apoptosis (Nurkhasanah dan Azimahtol, 2009). Mekanisme kerja akar pasak bumi sebagai pemicu terjadinya apoptosis juga ditunjukkan pada kelompok fraksi etil asetat ekstrak etanol akar pasak bumi. Adanya peningkatan terjadinya apoptosis ditunjukkan pada kelompok yang diberi ekstrak memiliki persen ekspresi *Caspase-3* dan *Caspase-9* yang lebih besar dibandingkan dengan kelompok

DMBA dengan nilai signifikansi sebesar 0,000 ($p < 0,05$).

Kelompok sampel yaitu kelompok yang diberi DMBA serta kombinasi *doxorubicin* dan ekstrak menunjukkan hasil persen ekspresi *Caspase-9* yang berbeda bermakna jika dibandingkan dengan kelompok yang diberi DMBA dan *doxorubicin* dengan nilai signifikansi sebesar 0,000 ($p < 0,05$). Hasil penelitian juga menunjukkan perbedaan yang bermakna antara kelompok yang diberi DMBA, *doxorubicin* dan ekstrak dengan kelompok yang diberi DMBA dan ekstrak dengan nilai signifikansi sebesar 0,000 ($p < 0,05$).

Kelompok *doxorubicin* dan ekstrak memiliki mekanisme kerja dengan pemacuan apoptosis (Wang *et al.*, 2004; Zakaria *et al.*, 2009) sehingga dapat meningkatkan ekspresi *Caspase-3* dan *Caspase-9*. Jika dibandingkan, kelompok kombinasi DMBA, *doxorubicin*, dan ekstrak memiliki persen ekspresi yang hampir sama dengan kelompok *doxorubicin* dan ekstrak dengan nilai signifikansi sebesar 0,848 ($p > 0,05$). Hal ini disebabkan kelompok

doxorubicin dan ekstrak memiliki efek sinergis (Mahfur, 2015) dengan mekanisme pemacuan apoptosis (Tee *et al.*, 2005) sehingga pada kelompok sampel yang diberi *doxorubicin* dan ekstrak setelah diinduksi DMBA dapat terjadi peningkatan persen ekspresi *Caspase-9* sebagai inisiator apoptosis.

Adanya *doxorubicin* dapat meningkatkan terjadinya apoptosis (Wang *et al.*, 2004) serta akar pasak bumi memiliki zat aktif kuasinoid yang dapat memacu terjadinya apoptosis atau penghambatan proliferasi sel kanker dengan melibatkan kerja enzim-enzim antioksidan dan respon imun seluler (Tee *et al.*, 2005). Aktivitas antikanker juga ditunjukkan flavonoid melalui penghambatan proliferasi pada berbagai sel kanker namun tidak toksik pada sel normal (Ren *et al.*, 2003). Dari hasil penelitian yang diperoleh menunjukkan bahwa ko-kemoterapi fraksi etil asetat akar pasak bumi dan *Doxorubicin* efektif sebagai antikanker, dilihat dari hasil ekspresi protein *Caspase 3*, *Caspase 9*, dan *Bax* yang semakin meningkat dengan

adanya ko-kemoterapi dibandingkan dengan pemberian *Doxorubicin* saja. Hasil diatas sesuai dengan penelitian yang dilakukan secara *in vitro* oleh Ahidin (2015) bahwa fraksi etil asetat akar pasak bumi dan *Doxorubicin* memiliki aktivitas dalam menghambat sel T47D melalui mekanisme peningkatan ekspresi *Bax* dan penurunan ekspresi *Bcl-2*. Dengan adanya ko-kemoterapi fraksi etil asetat dan *Doxorubicin* dapat meningkatkan ekspresi *Bax* sebagai protein proapoptosis sehingga menyebabkan pelepasan sitokrom c dari mitokondria ke sitosol yang akan mengaktifkan kaspase 9 dan kaspase 3, dimana kaspase 3 merupakan kaspase terakhir yang memecah DNA dan substrat lainnya sehingga mengakibatkan terjadinya kematian sel.

2. P53 mutan, COX-2, Ki-67

Protein 53 memiliki peran yang krusial dalam mengontrol siklus sel, apoptosis dan memelihara stabilitas genom. Hilangnya fungsi p53 akibat dari mutasi dapat menimbulkan transformasi keganasan, penyebaran tumor dan resistensi tumor terhadap terapi yang

menginduksi kerusakan DNA. Mutasi dari p53 akan menghasilkan protein yang abnormal dengan waktu paruh yang sangat memanjang, menyebabkan akumulasi dari produk ini, yang ekspresinya dapat terdeteksi secara imunohistokimia (Choudhury, *et al.*, 2012). Enzim siklooksigenase-2 (COX-2) merupakan enzim yang mengkatalisis reaksi dengan menghasilkan produk prostaglandin

penyebab inflamasi. Prostaglandin hasil aktivitas COX-2 terlibat dalam karsinogenesis dengan merangsang terjadinya proliferasi, angiogenesis, dan penghambatan apoptosis (Koki *et al.*, 2002).

Tabel II. Hasil pengamatan rata-rata persentase ekspresi protein p53 mutan, COX-2, Ki-67 setelah diberikan perlakuan Doxorubicin dan Fraksi Etil Asetat Akar Pasak Bumi pada Tikus yang Diinduksi DMBA

Kelompok	Rata-rata p53 mutan	Rata-rata COX-2	Rata-rata Ki-67
Sehat	9,35 ± 0,32	6,12 ± 0,99	3,83 ± 1,01
DMBA	21,65 ± 1,60	33,66 ± 6,23	40,03 ± 2,41
DMBA+Doxo	10,72 ± 2,52	15,44 ± 2,23	19,54 ± 1,28
DMBA+FAPB	11,63 ± 3,39	12,95 ± 2,40	6,97 ± 1,09
DMBA+Doxo+FAPB	12,72 ± 3,44	17,71 ± 1,33	36,42 ± 1,80

Hasil pada kelompok DMBA jika dibandingkan kelompok sehat menunjukkan adanya perbedaan warna dan berdasarkan persentase ekspresi p53 mutan menunjukkan nilai persentase yang lebih besar pada kelompok DMBA daripada kelompok normal. Hal ini menunjukkan bahwa hewan uji yang diinduksi DMBA mengekspresikan

p53 mutan karena metabolit reaktif DMBA akan membentuk DNA *adduct* dan menyebabkan mutasi (Weimer *et al.*, 2000) mutasi terjadi pada gen p53 pada *mammae* (Pratiniyata *et al.*, 2012). Ekspresi COX-2 meningkat terkait dengan DNA yang harus diperbaiki oleh pengaruh induksi DMBA, hal ini dikarenakan DMBA menyebabkan

terbentuknya DNA *adduct* yang merupakan suatu proses awal inisiasi terjadinya kanker yang menyebabkan kerusakan pada DNA dan terjadinya stress oksidatif. DMBA mengakibatkan penurunan gen repair perbaikan DNA dan peningkatan mutasi (Hollander *et al.*, 2001). Penurunan p53 mutan dapat menginduksi pelepasan sitokrom c dari mitokondria ke sitoplasma, aktivasi *caspase* 9 selanjutnya mengaktifkan *caspase* yang lain seperti *caspase* 3 dan 7, lalu *caspase* 3 akan menginisiasi apoptosis (Reuter *et al.*, 2008).

Protein COX-2 mengalami penurunan ekspresi Protein COX-2 pada kelompok perlakuan *Doxorubicin*. *Doxorubicin* berinteraksi dengan berinterkalasi (menyisip) dalam DNA dan menghambat biosintesis makromolekul. Kondisi ini lebih lanjut akan menghambat kerja topoisomerase II yang berfungsi menguraikan plin DNA untuk persiapan proses transkripsi. *Doxorubicin* membuat kompleks topoisomerase II tetap stabil. Hal ini membuat proses replikasi

terhenti dengan sulit mengudarnya pilinan ganda DNA. *Doxorubicin* juga menghambat kerja reverse transkriptase senyawa dapat bekerja pada membran sel (Smith *et al.* 2000). *Doxorubicin* bertindak dengan menginterkalasi pasangan basa tertentu pada DNA sel kanker, sehingga terjadi bloking sintesis RNA atau DNA baru atau mencegah pemotongan DNA dan pada akhirnya, penggandaan DNA. Sel normal yang berproliferasi juga turut diserang oleh *Doxorubicin* melalui hambatan ekspresi Ki-67, sehingga kadang terjadi efek samping seperti myelosupresi, alopeksia, atau mukositis (Aschenbrenner *et al.*, 2009).

Namun *Doxorubicin* menimbulkan efek samping pada pemakaiannya seperti terjadi perubahan kardiovaskuler (Distefano, 2009) dan (Benjamin, *et al.*, 2006), hepatotoksik (Chen, *et al.*, 2011), serta adanya efek toksik pada jaringan normal tubuh (Fimognari, *et al.*, 2006). Selanjutnya pemberian ko-kemoterapi fraksi etil asetat akar pasak bumi dilihat untuk tujuan mengurangi efek samping

penggunaan *Doxorubicin* dan meningkatkan efektivitas kemoterapi.

Pemberian ko-kemoterapi menunjukkan hasil presentase ekspresi p53 mutan, COX-2, Ki-67 mengalami penurunan dibandingkan kelompok DMBA. Hal ini sesuai penelitian Normakiyah *and* Nurani (2010) bahwa ekstrak etanol akar pasak bumi dapat menurunkan ekspresi p53 mutan. Efek proapoptosis oleh p53 diperantarai melalui peningkatan sintesis Bax. Efek proapoptosis oleh p53 diperantarai melalui peningkatan sintesis Bax. Selanjutnya protein Bax tersebut akan mendorong pelepasan sitokrom c pada mitokondria, yang akhirnya akan membentuk suatu kompleks dengan Apoptosis Inducing Factor-1 (APAF-1), prokaspase-9 dan Adenosine-Triphospat (ATP). Komplek tersebut mengakibatkan terjadinya aktivasi prokaspase-9 menjadi kaspase-9. Kemudian kaspase-9 akan memicu aktivasi dari kaspase-3. Kaspase-3 merupakan kaspase terakhir atau eksekutor yang memecah DNA dan substrat lainnya sehingga mengakibatkan terjadinya kematian sel (Kumar, *et al*,

2010). Ekspresi p53 mutan, COX-2, Ki-67 dalam percobaan ini dimungkinkan berkaitan dengan proses induksi apoptosis sel. Fraksi ini dapat dikembangkan lebih lanjut sebagai agen ko-kemoterapi

KESIMPULAN

Ko-kemoterapi fraksi etil asetat akar pasak bumi dan *Doxorubicin* meningkatkan ekspresi Caspase-3, Caspase-9, Bax dan menurunkan p53 mutan, COX-2, Ki-67 lebih efektif dibandingkan *Doxorubicin* tunggal dan sama efektifnya dibandingkan fraksi etil asetat akar pasak bumi.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih kepada DIKTI melalui pendanaan program hibah tim pascasarjana TA 2015/2016 dan LPP UAD atas biaya yang diberikan dalam penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

Ahidin Didin, 2015. Efek Ko-Kemoterapi Fraksi Etil Asetat Ekstrak Etanol Akar Pasak Bumi (*Eurycoma longifolia* Jack) Dan *Doxorubicin* Terhadap Ekspresi Bax Dan Bcl-2 Pada Sel T47d,

- Tesis*, Ahmad Dahlan, Yogyakarta.
- Arafa, H. M., M. F. Abdelah, dan H. F. Hafez, 2005, Abatement by naringenin of doxorubicin-induced cardiac toxicity in rats, *Journal of the Egyptian Nat Cancer Inst*(17), 291-300.
- Bajak, E. 2005, Genotoxic stress: novel biomarkers and detection methods uncovering RNAs role in epigenetics of carcinogenesis, Karolinka University Press, Sweden.
- Benjamin, R.S., and Ewer, M.S., 2006. Doxorubicin Cardiotoxicity: Clinical Aspect, Recognition, Monitoring, Treatment, and Prevention. In: Yeh. E., Ewer, M.S., ed. *Cancer and the heart*. Ontario: BC Decker, 9-31.
- Choudhury, M., Seema, G., Mukta, P., Meenu, P., 2012. A Cytohistological study of p53 overexpression in ovarian neoplasm. *South Asian Journal of Cancer*. Vo.1:59-65.
- Distefano, G., 2009. Molecular Pathogenic Mechanism and New Therapeutic Perspectives in Anthracycline-induced Cardiomyopathy. *Italian Journal of Pediatrics*, 35:37 (1) : 1-8.
- Gandamihardja. S, Firman F. W, Shahib, N, 2012, Peran Siklooksigenase dalam Pertumbuhan Kanker Leher Rahim, Skripsi, Universitas Indonesia.
- Hollander, M. C., Kovalsky, O., Salvador, J. M., Kim, K. E., Patterson, A. D., Haines, D. C., *et al.*, 2001. Dimethylbenzanthracene carcinogenesis in Gadd45a-null mice is associated with decreased DNA repair and increased mutation frequency. *Cancer research*, 61(6), 2487-2491.
- Kubatka, P., Ahlersova E., Ahlers I, Bojkova B., Kalicka K., Adamnekova E., *et al.*, 2002. Variability of Mammary arcinogenesis Induction in Female Sprague-Dawley and Wistar; Hans Rats; the Effect of Seasons, *Physiology Research*, 51, 663-640.
- Kumar Sunil M., Sinha, S., Mittal, S. P., Singh, K., Kadreppa, S., Kamat, R., *et al.*, 2010. Coordinated regulation of p53 apoptotic targets BAX and PUMA by SMAR1 through an identical MAR element. *The EMBO journal*, 29(4), 830-842.
- Kuo, P.-C., L.-S. Shi, A. G. Damu, *et al.*, 2003. Cytotoxic and antimalarial \hat{I}^2 -carboline alkaloids from the roots of *Eurycoma longifolia*, *Journal of Natural Products*, 66(10): 1324-1327.
- Lestari, D., Y., Joewarini, E., 2015, Ekspresi p53 Mutant dan EGFR pada Benign, Borderline, dan Malignant Phyllodes Tumor, *Majalah Patologi*, Universitas Airlangga, Surabaya.
- Meiyanto, E., Susilowati, S., Tasminatun, S., Murwanti, R., and Sugiyanto. 2007. Efek Kemopreventif ekstrak etanolik *Gynura procumbens* (Lour), Merr pada karsinogenesis kanker payudara tikus. *Majalah Farmasi Indonesia* 18: 154-161.
- Nurani, L. H., 2011. Mekanisme molekuler kemopreventif dan antikanker senyawa aktif akar

- pasak bumi (*Eurycoma longifolia* Jack) kajian in vitro pada sel T47D dan in vivo pada kanker payudara pada tikus SD yang diinduksi DMBA. *Disertasi, Universitas Gadjah Mada*.
- Nurkhasanah, dan M. Azimahtol, 2009, Morphological studies of apoptotic HeLa cells death induced by eurycomanone, *Majalah Farmasi Indonesia*, 20(4), 190 – 197
- Ren, Wenying, 2003. Flavonoids: promising anticancer agents. *Medicinal research reviews*, 23.4: 519-534.
- Ruddon, R., 2007, *Cancer Biology* 4th Edition, USA: Oxford University Press.
- Shi et al., 2011. Mechanisms and Management of Doxorubicin Cardiotoxicity, Herz: USA.
- Smith, L., M. B. Watson, S. L. O'Kane, et al., 2006. The analysis of *Doxorubicin* resistance in human breast cancer cells using antibody microarrays, *Molecular Cancer Therapeutics*, 5(8): 2115-2125.
- Tee, T.T and Azimahtol, H.L.P., 2005. Induction of apoptosis by *Eurycoma longifolia* Jack extract, *Anticancer Research*, 25: 2205-2214
- Utami, Sri, 2010, Peran kaspase pada apoptosis sebagai salah satu usaha dalam kemoterapi kanker, *Bagian Biologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Kristen Maranatha Bandung*
- Wang, S., E. A. Konorev, S. Kotamraju, J. Joseph, J., dan S. Kalivendi, 2004, Doxorubicin induces apoptosis in normal and tumor cells via distinctly different mechanisms, *The Journal of Biological Chemistry*, 279: 25535-25543.
- Weimer, T. L., Reddy, A. P., Harttig, U., Alexander, D., Stamm, S. C., Miller, M. R., Baird, W., Hendricks, J., and Bailey, G., 2000. Influence of β -Naphthoflavone on 7,12-Dimethylbenz[a]anthracene Metabolism, DNA Adduction, and Tumorigenicity in Rainbow Trout, *Toxicological Sciences*, 57, 217-228
- Zakaria Y, Rahmat A, Azimahtol HLP, Abdullah NR, Houghton PJ., 2009, Eurycomanone induce apoptosis in HepG2 cells via upregulation of p53, *Cancer Cell Int.*(9): 16.
- Zhivotovsky, B., and Orrenius, S., 2006. Carcinogenesis and apoptosis: paradigms and paradoxes. *Carcinogenesis*, 27(10), 1939-1945.

**CAPSULE FORMULATION AND EFFECT OF ROOT EXTRACT
ETHANOL *Eurycoma longifolia* Jack. VITAL SIGN OF HEALTHY
VOLUNTEERS**

**FORMULASI DAN PENGARUH KAPSUL EKSTRAK ETANOL AKAR
PASAK BUMI (*Eurycoma longifolia* Jack.) TERHADAP VITAL SIGN
RELAWAN SEHAT**

¹⁾Laela Hayu Nurani, ²⁾ Abdul Rohman, ³⁾ Eka Kumalasari

^{1,3)} Universitas Ahmad Dahlan ²⁾ Universitas Gajah Mada

¹⁾ laelafarmasi@yahoo.com, ²⁾ abdulkimfar@gmail.com,

³⁾ ekakumalasari260989@gmail.com

Abstract

Eurycoma longifolia has the potential to be developed into a traditional medicine that serves as antihypertensive, antipyretic, afrodisiaca and health supplements. Use of *Eurycoma longifolia* as a traditional medicine needs to be pursued in the form of more effective regimens with dosages more appropriate. Preparations are easy to make and can cover the bitter taste of *Eurycoma longifolia* in the form of capsules. Formula capsules with additional material vivapur 101 by 300 mg, 58 mg maydis starch, aerosil 3%, 2% talc, Mg. Stearate 1% for a dose of ethanol extract of the *Eurycoma longifolia* as imunostimulansia 300 mg/capsule, capsule with the right formula and evaluations have been conducted of preparation can be used in health care forma to pass the security test preparations in healthy volunteers. Pararemeter measured are heart rate, respiration rate, body temperature, weight, and blood pressure. Test capsule effect of ethanol extract of *Eurycoma longifolia* in this study using a design pre-post treatment in healthy volunteers. Subjects used were 10 healthy men and 10 healthy women who met inclusion criteria were for 14 days capsule ethanol extract of *Eurycoma longifolia* that has been formulated. The research data were analyzed statistically using paired T-test. The results showed that ethanol extract capsules roots of *Eurycoma longifolia* does not affect the value of heart rate, and weight but affects blood pressure, respiration rate, and body temperature.

Keywords: *Eurycoma longifolia*, capsules, vital sign.

Abstrak

Akar pasak bumi (*E. longifolia*) memiliki potensi untuk dikembangkan menjadi obat tradisional yang berfungsi sebagai antihipertensi, antipiretik, afrodisiaca dan suplemen kesehatan. Penggunaan akar pasak bumi sebagai obat tradisional perlu diupayakan dalam bentuk sediaan yang lebih efektif dengan dosis yang lebih tepat. Sediaan yang mudah dibuat dan dapat menutup rasa pahit dari akar pasak bumi yaitu berupa kapsul. Formula kapsul dengan bahan tambahan vivapur 101 sebesar 300 mg, *amilum maydis* 58 mg, aerosil 3%, talk 2%, Mg. Stearat 1% untuk dosis ekstrak etanol akar pasak bumi sebagai imunostimulansia 300 mg/kapsul. Kapsul dengan formula yang tepat dan telah dilakukan evaluasi sediaan dapat digunakan dalam pelayanan kesehatan formal dengan melewati uji keamanan sediaan pada relawan sehat. Pararemeter yang diukur adalah tekanan darah, *heart rate*, *respiration rate*, suhu tubuh dan berat badan. Uji pengaruh kapsul ekstrak etanol akar pasak bumi pada penelitian ini menggunakan design *pre-post treatment* pada relawan sehat. Subjek yang digunakan adalah 10 laki-laki sehat dan 10 perempuan sehat yang memenuhi kriteria inklusi yang selama 14 hari diberikan kapsul ekstrak etanol akar pasak bumi yang sudah diformulasi. Data penelitian dianalisis statistik menggunakan uji *paired T-test* dan uji *Wilcoxon*. Hasil penelitian menunjukkan bahwa kapsul ekstrak etanol akar pasak bumi tidak mempengaruhi nilai *heart rate*, dan berat badan namun mempengaruhi tekanan darah, *respiration rate*, dan suhu tubuh relawan sehat.

Kata Kunci : Akar pasak bumi, kapsul, vital sign.

PENDAHULUAN

Pasak bumi (*Eurycoma longifolia* Jack) merupakan salah satu tanaman herbal tropis yang sangat populer di negara-negara Asia Tenggara. Akar dari tanaman ini biasanya digunakan untuk mengobati rasa sakit, meningkatkan gairah seksual, bengkak kelenjar dan sebagai suplemen kesehatan (Kuo *et al.*, 2003). Pasak bumi juga digunakan sebagai sitotoksik, antimalaria, antiulcer, antipiretik (Tee dan Azimahtol, 2005) dan sebagai antihiperqlikemi (Husenet *al.*, 2004). Selain itu akar pasak bumi memiliki kandungan kimia yang sangat beragam. Tanaman ini mengandung beberapa macam kuasinoid yang bertanggung jawab terhadap rasa pahit, triterpen triscullane, turunan skualen, bifenil-*neo*-lignan, xantin-6-on dan alkaloid β -karbolin (Bedir *et al.*, 2003). Sediaan yang mudah dibuat dan dapat menutupi rasa pahit dari akar pasak bumi sertamudah ditelan maka dibuatlah sediaan kapsul (Augsburger, 2000).

Upaya agar obat tradisional dapat diterima di pelayanankesehatan formal/profesi dokter, maka hasil data empirik harus didukung oleh bukti ilmiah adanya khasiat dan keamanan penggunaannya pada manusia (Dewoto, 2007). Penelitian Henkel *et al.*, (2013) menyebutkan bahwa 200 mg ekstrak air akar pasak bumi yang diberikan 2 kali sehari selama 5 minggu kepada laki-laki dan wanita dapat digunakan sebagai suplemen herbal yang tidak memiliki efek samping dan dapat meningkatkan kekuatan otot yang signifikan pada laki-laki. Hal ini sejalan dengan penelitian lain yang menyebutkan bahwa pemberian ekstrak air akar pasak bumi terstandar dosis 1,2 gram dua kali sehari selama 14 hari bersifat aman dan tidak menimbulkan efek samping yang berbahaya (Hayati, 2013).

Salah satu cara untuk menilai keamanan penggunaan akar pasak bumi pada manusia maka dilakukan pemeriksaan *vital sign* (tekanan darah, *heart rate*, *respiration rate*, berat badan dan suhu tubuh). *Vital sign* digunakan untuk mengukur fungsi dasar tubuh

membantu menilai kesehatan fisik secara umum untuk memberikan petunjuk untuk penyakit yang mungkin ada (Schriger, 2007).

METODE

Penelitian ini menggunakan desain penelitian eksperimental untuk memperoleh formula kapsul ekstrak etanol akar pasak bumi yang tepat (Roselyndiar, 2012). Uji pengaruh kapsul ekstrak etanol akar pasak bumi pada relawan sehat selama hari 14 hari menggunakan desain *pre-post treatment* (Kanokkangsadal, 2016).

Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah akar pasak bumi (*Eurycoma longifolia* Jack) yang diperoleh dari Kalimantan Selatan. Etanol 70 %, vivapur 101, talk, Mg. Stearat, aerosil, *amilum maydis*, dan cangkang kapsul gelatin diperoleh dari Bratachem Yogyakarta.

Ekstraksi sampel

Akar pasak bumi dikeringkan di Laboratorium Teknologi Sediaan Farmasi UAD dan dihaluskan menjadi serbuk. Lakukan pemeriksaan standarisasi simplisia. Selanjutnya pembuatan ekstrak dilakukan dengan merendam 2,5 kg serbuk ke dalam etanol 70% sebanyak 8 liter diaduk dengan stirer selama 3 jam kemudian didiamkan selama 24 jam. Filtrat diuapkan dengan *rotary evaporator* pada suhu 60°C sampai diperoleh ekstrak kental. Proses ekstraksi dilakukan sebanyak 8 kali untuk memperoleh jumlah ekstrak yang lebih banyak.

Formulasi Kapsul

Formula dari kapsul ekstrak etanol akar pasak bumi terlihat pada Tabel 1. Ekstrak kental dikeringkan dengan penambahan vivapur 101 dan dioven pada suhu 50°C selama

satu jam. Selanjutnya, dicampur dengan *amilum maydis*, talk, Mg. stearat dan aerosil. Masukkan campuran tersebut kedalam cangkang kapsul gelatin. Sediaan dievaluasi keseragaman bobotnya, waktu hancur dan higroskopisnya (Roselyndiar, 2012).

Uji Pengaruh

Penelitian pengaruh kapsul ekstrak etanol akar pasak bumi pada relawan sehat menggunakan desain *pre-post treatment*. Parameter nilai tekanan darah, *heart rate* (HR), *respiration rate* (RR), suhu tubuh (T) dan berat badan dari relawan sehat diukur sebelum dan sesudah mengkonsumsi kapsul berisi 300 mg ekstrak etanol akar pasak bumi selama 14 hari. Adapun kriteria inklusi dari penelitian ini ialah relawan sehat sehat yang dibuktikan dengan surat keterangan sehat, tidak merokok, BMI tidak lebih dari 30, tidak mengkonsumsi obat, tidak mengkonsumsi vitamin atau suplemen kesehatan dan laki-laki dan perempuan berumur 18 – 55 th serta bersedia menjadi subjek. Adapun kriteria eksklusi pada penelitian ini yaitu relawan sehat tidak kooperatif selama penelitian berlangsung, wanita hamil dan wanita menyusui.

HASIL DAN KESIMPULAN

Data hasil uji keseragaman bobot dapat dilihat pada Tabel 2. Berdasarkan persyaratan Farmakope Indonesia edisi III bahwa kapsul dengan bobot rata-rata lebih dari 120 mg tidak boleh memiliki perbedaan dalam persen bobot isi tiap kapsul terhadap bobot rata-rata isi kapsul lebih dari 7,5% dan 15%. Berdasarkan penimbangan kapsul untuk uji keseragaman bobot menunjukkan tidak ada yang menyimpang lebih dari persyaratan. Hal ini menunjukkan bahwa formula memenuhi kriteria untuk keseragaman bobot.

Kapsul dapat memberikan efek terapi jika terlebih dahulu hancur menjadi partikel yang lebih kecil, agar isi kapsul dapat terabsorpsi pada saluran cerna. Uji waktu hancur

untuk kapsul menunjukkan waktu hancur rata-rata ± 1 menit 35 detik. Hasil uji waktu hancur menunjukkan bahwa semua formula memenuhi syarat uji waktu hancur kapsul Farmakope Indonesia edisi III yaitu waktu hancur di bawah 15 menit seperti terlihat pada Tabel 3.

Uji higroskopis dilakukan dengan mengamati perubahan bobot dan warna dari isi kapsul selama satu minggu. Perubahan bobot kapsul dan warna isi kapsul setiap waktunya dapat menggambarkan perubahan kadar air yang terdapat dalam sediaan seperti terlihat pada Tabel 4. Berdasarkan hasil pengamatan bobot formula tidak menunjukkan perubahan yang signifikan hanya terjadi penambahan bobot 1 mg sampai hari ke tujuh. Pengamatan warna isi sediaan kapsul masih tetap menunjukkan warna kecoklatan. Hal ini menunjukkan selama satu minggu formula masih stabil dan belum terjadi perubahan warna.

Ekstrak adalah bahan yang bersifat higroskopis sehingga mudah menyerap air. Hal ini sediaan dapat tetap stabil dikarenakan penggunaan vivapur 101 sebagai pembuatan serbuk ekstrak. Vivapur 101 juga memiliki sifat sebagai adsorben. Jumlah penggunaan yang cukup besar dengan perbandingan ekstrak kental:vivapur 101 (1:1) menghasilkan serbuk kering sediaan lebih kering, halus, mudah homogen dan stabil. Selain itu, penambahan aerosil sebagai adsorben untuk melindungi bahan berkhasiat dari pengaruh kelembaban, membantu meningkatkan homogenitas campuran, dan menghindari lembab akibat reaksi antar bahan (Roselyndiar, 2012).

Penelitian dilanjutkan uji pengaruh kapsul ekstrak etanol akar pasak bumi menggunakan relawan sehat sebanyak 10 orang perempuan dan 10 orang laki-laki (Sastroasmoro dan Ismael, 2014). Pemeriksaan *vital sign* dilakukan di hari ke-0 dan hari

ke-14 dilakukan oleh seorang dokter yang memiliki izin praktek terlihat pada Tabel 5, Tabel 6, Gambar 1 dan Gambar 2.

Uji distribusi normal data *vital sign* dilakukan dengan menggunakan uji *Shapiro-Wilk* karena jumlah sampel yang kurang dari 50. Pada pemeriksaan *vital sign* relawan sehat dan relawan sehat wanita menggunakan taraf kepercayaan 95%, jika data terdistribusi normal maka analisis dilanjutkan dengan uji *Paired sample T-test*. Jika data tidak terdistribusi normal maka analisis dilanjutkan dengan uji *Wilcoxon*.

Hasil penelitian yang dipaparkan pada Tabel 5 dan Tabel 6 menunjukkan bahwa terjadi perubahan penurunan rata-rata nilai seluruh *vital sign* pada hari ke-14. Namun, setelah dilakukan analisis statistik uji *Paired Sample T-test* dan *Uji Wilcoxon* diketahui bahwa nilai parameter *vital sign* relawan sehat laki-laki berupa *heart rate* dan berat badan menunjukkan nilai berbeda tidak signifikan kecuali nilai sistol, diastol, *respiration rate* dan suhu tubuh yang menunjukkan ada perbedaan nilai hari ke 0 dan hari ke 14 setelah relawan sehat diberikan kapsul ekstrak etanol akar pasak bumi. Pemeriksaan parameter *vital sign* relawan sehat perempuan diketahui nilai *heart rate*, berat badan dan suhu tubuh menunjukkan nilai berbeda tidak signifikan, sementara nilai sistol, diastol, dan *respiration rate* menunjukkan nilai berbeda signifikan.

Data hari ke-0 tekanan darah relawan sehat menunjukkan range nilai normal. Rata-rata tekanan darah normal 120/80 mmHg (Smeltzer & Bare, 2001). Tekanan darah relawan sehat laki-laki dan wanita setelah diberikan kapsul akar pasak bumi menunjukkan perubahan penurunan rata-rata dan setelah dilakukan uji statistik menghasilkan nilai berbeda signifikan. Hal ini sejalan dengan hasil penelitian *in vivo* oleh Tee, dkk (2016) yang menunjukkan hasil bahwa ekstrak etanol akar pasak bumi menyebabkan vasodilatasi

pembuluh, sehingga dapat menurunkan tekanan darah. Usia muda prevalensi hipertensi lebih tinggi pada pria dibandingkan pada perempuan, sedangkan pada usia lanjut tekanan darah lebih tinggi pada wanita dibandingkan pada pria (Kearney *et al.*, 2005).

Pemeriksaan tekanan darah dan *Heart rate* bertujuan untuk menilai fungsi kardiovaskular oleh karena itu pengukuran *Heart rate* termasuk dalam pemeriksaan *vital sign*. *Heart rate* relawan sehat laki-laki dan perempuan sebelum dan setelah diberikan kapsul akar pasak bumi menunjukkan berbeda tidak signifikan dan masuk kategori normal karena frekuensi denyut nadi dihitung dalam 1 menit, normalnya 60-100 kali/menit. Hal ini sama dengan hasil penelitian yang dilakukan Mokhtar *et al.*, (2014) pada tikus bahwa ekstrak akar pasak bumi secara signifikan mengurangi tekanan perfusi koroner, namun tidak ada perubahan yang signifikan tekanan ventrikel kiri dan *heart rate*. Denyut nadi seseorang akan terus meningkat bila suhu tubuh meningkat kecuali bila pekerja yang bersangkutan telah beraklimatisasi terhadap suhu udara yang tinggi (Muffichatum, 2006).

Akar pasak bumi secara signifikan dapat meningkatkan jumlah testosteron dan progesteron yang diproduksi oleh testis tikus (Eng, 2007). Selain itu ekstrak akar pasak bumi dapat mengaktifkan enzim yang mengkonversi pregnenolon menjadi progesteron dan mengkonversi 17-OH pregnenolon menjadi dehydropiandrosterone dan kemudian menjadi testosteron. Testosteron secara klinis dapat mengurangi kejadian miokard iskemi pada pasien dengan angina koroner dengan dilatasi arteri dan meningkatkan aliran darah koroner (Pugh *et al.*, 2002). Hormon ini juga menghasilkan relaksasi arteri pada kontrol sehat, pasien dengan gagal jantung dan laki-laki dengan defisiensi androgen (Malkin *et al.*, 2006).

Berat badan relawan sehat laki-laki dan perempuan sebelum dan setelah diberikan kapsul akar pasak bumi menunjukkan tidak berbeda signifikan. Hal ini sejalan dengan

penelitian Ahmad *et al.*, (2011) tikus galur SD yang diberikan 8 mg/kg ekstrak air akar pasak bumi *secara intra muscular* satu kali sehari selama 6 minggu menunjukkan perbedaan yang tidak signifikan sebelum dan sesudah perlakuan. Bobot tikus tetap stabil selama penelitian. Penelitian juga dilakukan terhadap berat badan tikus galur SD yang berumur 1 tahun dengan bobot 370–500 g yang diberikan ekstrak kering akar pasak bumi sebanyak 15 mg/kg selama 6 minggu menunjukkan bahwa ada perbedaan tidak signifikan antara kontrol dan kelompok perlakuan (Ariff *et al.*, 2012). Hasil ini diperkuat juga dengan penelitian yang dilakukan oleh Muhammad *et al.*, (2010) terhadap laki-laki yang diberikan 75 mg kapsul akar pasak bumi 2 kali sehari selama 7 hari tidak menunjukkan adanya perbedaan signifikan pada suhu tubuh, berat badan dan *heart rate* sebelum dan sesudah perlakuan.

Suhu tubuh relawan sehat perempuan sebelum dan setelah diberikan kapsul akar pasak bumi menunjukkan berbeda tidak signifikan dan berada dalam suhu normal. Sedangkan Suhu tubuh relawan sehat laki-laki sebelum dan setelah diberikan kapsul akar pasak bumi menunjukkan berbeda signifikan. Suhu tubuh relawan sehat normal karena suhu rata-rata normal umumnya antara 98,0° F (36,6 °C) dan 98,6 °F (37 °C) ketika diukur secara oral (Schriger, 2007). Suhu tubuh normal dapat dipengaruhi oleh ritme biologis, hormon-hormon, olahraga dan usia. Sejauh ini dilaporkan bahwa efek samping penggunaan akar pasak bumi dalam jumlah besar dapat menyebabkan sulit tidur dan meningkatkan suhu tubuh (Minorsky, 2004).

Respiration rate relawan sehat laki-laki dan perempuan sebelum dan setelah diberikan kapsul akar pasak bumi menunjukkan berbeda signifikan. Tingkat respirasi di bawah 12 atau di atas 25 napas per menit saat beristirahat dianggap abnormal. Di antara kondisi yang

dapat mengubah tingkat pernapasan normal asma, kecemasan, pneumonia, gagal jantung kongestif, penyakit paru-paru, penggunaan narkotika, atau overdosis obat (Schriger, 2007).

KESIMPULAN

Penelitian ini memperoleh formula yang tepat terhadap kapsul ekstrak etanol akar pasak bumi (*Eurycoma longifolia* Jack.). Kapsul ekstrak etanol akar pasak bumi tidak mempengaruhi nilai berat badan dan *heart ratenamun* berpengaruh pada nilai tekanan darah, *respiration rate*, suhu tubuh relawan sehat.

UCAPAN TERIMAKASIH

Terimakasih disampaikan kepada DIKTI atas hibah Tim Pascasarjana tahun anggaran 2015/2016 dengan Nomor : PDD-002/PS3/III/2016 tanggal 25 Maret 2016.

DAFTAR PUSTAKA

- Ariff AST., Ima NS., J. Pramanik, Ahmad NS. 2012. Effects of *Eurycoma longifolia* on Testosterone Level and Bone Structure in an Aged Orchidectomised Rat Model. *Hindawi Publishing Corporation Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. Article ID 818072, 7 pages. <http://dx.doi.org/10.1155/2012/818072>
- Augsburger, L.L. 2000. *Modern Pharmaceutics: Hard and Soft Gelatin Capsules* (Ed. 2). New York: Merceel Dekker.
- Bedir, E., Gazar, H., A., Ngwendson, J., N., Khan, I., A. 2003. Eurycomaoside: A New Quassinoid-Type Glycoside from the Roots of *Eurycoma longifolia*. *Chem. Pharm. Bull.* Vol 51. 1301-1303. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14600377>.
- Dewoto, H.R. 2007. Pengembangan Obat Tradisional Indonesia Menjadi Fitofarmaka. *Majalah Kedokteran Indonesi*. Volume: 57. Nomor: 7. https://www.academia.edu/9220589/Pengembangan_Obat_Tradisional_Indonesia_Menjadi_Fitofarmaka
- Eng, A. 2007. Correcting systemic androgen levels using *Eurycoma longifolia*. U.S. Patent Application 11/176,464. filed July 7. 2005. U.S. patent 20070009621. <https://www.google.com/patents/US20070009621>
- Hayati, Farida. 2013. Uji Praklinik dan Uji Klinik Fase I Ekstrak Air Akar Pasak Bumi (*Eurycoma longifolia*, Jack) Terstandar sebagai Afrodisiaka. *Disertasi*. Fakultas Kedokteran Universitas Gadjah Mada. Yogyakarta. <http://etd.repository.ugm.ac.id/> Diakses 20 September 2016
- Henkel, Rafi R, *et al.* 2013. Tongkat Ali as a Potential Herbal Supplement for Physically Active Male and Female Seniors-A Pilot Study. *Phytotherapy Research*. <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/ptr.5017/full>
- Husen, R., Azimahtol H.L.P., Nallappan, M., 2004, *Screening For Antihyperglycaemic Activity In Several Local Herbs Of Malaysia*, *Journal of Ethnopharmacology* 95 (2004) 205–208. <http://DOI: 10.1016/j.jep.2004.07.004>
- Kanokkangsadal, Puritat. 2016. *The Clinical Safety of Alcoholic Extract Sahastara Remedy of Extract Capsule in Healthy Volunteers*. Department of Applied Thai Traditional

- Medicine, Faculty of Medicine, Thammasat University (Online). Diakses tanggal: 24 Juli 2016. <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT02568059>
- Kearney, P.M., Megan Whelton, Kristi Reynolds, Paul Muntner, Paul K Whelton, Jiang He. 2005. Global burden of hypertension: analysis of worldwide data. *Lancet* 2005; 365: 217–23. [http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736\(05\)17741-1](http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736(05)17741-1)
- Kuo, P.C., Damu, A.G., Lee., K.H., Wu, T. S. 2004, Cytotoxic and antimalarial constituents from the roots of *Eurycoma longifolia*. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*. 12: 537-544. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14738962>
- Malkin CJ., Jones RD., Jones TH., Channer KS. 2006. Effect of testosterone on ex vivo vascular reactivity in man. *Clin Sci*; 111:265-74. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16722820>.
- Minorsky, P.V. 2004. On the inside. *Plant Physiology* 131(3):1157-1158.
- Mokhtar,RH., Abdullah Na., Ayob A.. 2014, Effects of *Eurycoma Longifolia* Extract on the Isolated Rat Heart, *IMJM*, Volume 13 Number 1. <http://journals.iium.edu.my/imjm/index.php/eimj/article/view/179>
- Muffichatum. 2006. Hubungan antara Tekanan Panas, Denyut Nadi dan Produktivitas Kerja pada pekerja Pandai Besi Paguyuban Wesi Aji Dororejo Batang. <http://digilib.unnes.ac.id>. Diakses pada tanggal 12 Agustus 2016
- Muhamad AZ., Chen Chee Keong., Ooi Foong Kiew., Mohd Rusli Abdullah., Chan Kit Lam. 2010. Effects of *Eurycoma longifolia* Jack Supplementation on Recreational Athletes' Endurance Running Capacity and Physiological Responses in the Heat. *International Journal of Applied Sports Sciences*, Vol. 22, No. 2, 1-19. https://www.researchgate.net/profile/Chee_Chen/publication/260965080
- Pugh PJ., Jones RD., Jones TH., Channer KS. 2002. Intrinsic response of rat coronary arteries in vitro. *Endocrine*; 19:155-61. <http://doi:10.1385/ENDO:19:2:155>
- Roselyndiar, 2012. Formulasi Kapsul Kombinasi Ekstrak Herba Seledri (*Apium graveolens* L.) dan Daun Tempuyung (*Sonchus arvensis* L.). *Skripsi*. Fakultas MIPA. Universitas Indonesia. <http://lib.ui.ac.id/> Diakses pada tanggal 20 September 2016
- Sastroasmoro, Sudigdo & Ismael, Sofyan, 2014, Dasar-dasar metologi penelitian klinis edisi V, Jakarta: Seagung Seto
- Schriger DL. 2007. Approach to the patient with abnormal vital signs. Goldman L, Ausiello D. *Cecil Textbook of Medicine*. 23rd ed. Philadelphia. Pa:Saunders Elsevier;:chap 7
- Smeltzer, S.C., & Bare, B.G. 2001. *Buku Ajar Keperawatan Medikal Bedah*. Jakarta: EGC. 45-47
- Shuid AS., Nazrun S., Mohd FAB., Tajul ABS., Norliza M., Norazlina M., & Ima NS. 2011. The anti-osteoporotic effect of *Eurycoma Longifolia* in aged orchidectomised rat mode. *The Aging Male* ; 14(3): 150–154. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20874437>.
- Tee, T.T., Azimahtol, H.L.P. 2005. Induction of Apoptosis by *Eurycoma longifolia* jack extracts. *Anticancer Research*. 2205 - 2213. 2005 May-Jun. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16158965>
- Tee, BH., See Ziau Hoe, Swee Hung Cheah, Sau Kuen Lam. 2016. First Report of *Eurycoma longifolia* Jack Root Extract Causing Relaxation of Aortic Rings in Rats. *Hindawi Publishing Corporation BioMed Research International* Volume 2016. Article ID 1361508.9 pages. <http://dx.doi.org/10.1155/2016/1361508>

Tabel 1. Formula kapsul ekstrak etanol akar pasak bumi (Roselyndiar,2012)

Komponen	Formula	Fungsi
Ekstrak kental	300 mg	Zat aktif
Vivapur 101	300 mg	adsorben
Amilum jagung	58 mg	pengisi
Aerosil	3%	adsorben
Talk	2%	glidan
Mg. Stearat	1%	lubrikan
Bobot Total	700 mg	

Tabel 2. Data keseragaman bobot kapsul ekstrak etanol akar pasak bumi

Replikasi	Netto bobot (g)	Replikasi	Netto bobot (g)
1	0,354	11	0,349
2	0,353	12	0,356
3	0,354	13	0,353
4	0,356	14	0,352
5	0,353	15	0,355
6	0,35	16	0,353
7	0,357	17	0,354
8	0,357	18	0,35
9	0,357	19	0,353
10	0,357	20	0,353
	Rata-rata		0,3538
	CV		0,68378

Tabel 3. Data waktu hancur kapsul ekstrak etanol akar pasak bumi

Replikasi	Waktu hancur kapsul
1	1 menit 36 detik
2	1 menit 33 detik
3	1 menit 36 detik
4	1 menit 36 detik
5	1 menit 33 detik
6	1 menit 33 detik
Rata-rata	1 menit 35 detik
CV	1,2148

Tabel 4. Data higroskopis kapsul hari ke-1 sampai hari ke-7

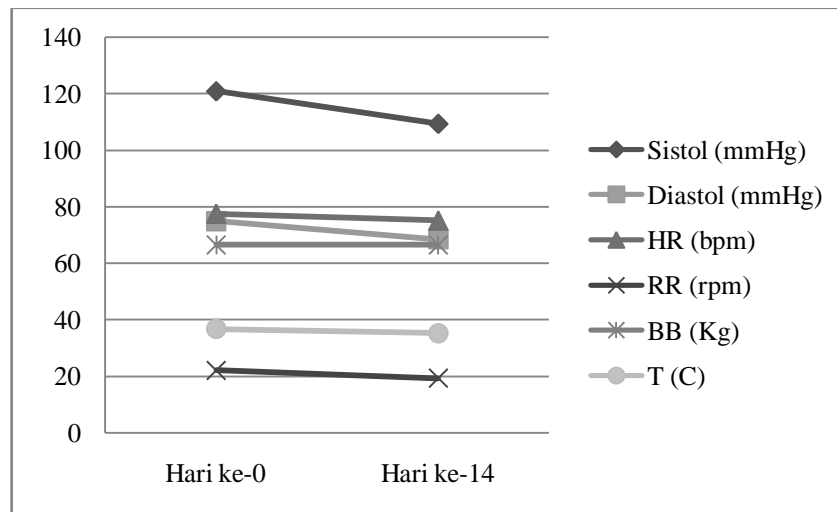
R	Bobot (g)						
	1	2	3	4	5	6	7
1	0,431	0,431	0,431	0,431	0,431	0,431	0,432
2	0,427	0,427	0,427	0,427	0,427	0,427	0,428
3	0,432	0,432	0,432	0,432	0,432	0,432	0,433

Tabel 5 . Nilai pemeriksaan *vital sign* relawan sehat laki-laki pada hari ke 0 dan hari ke-14relawan sehat pemberian kapsul ekstrak etanol akar pasak bumi

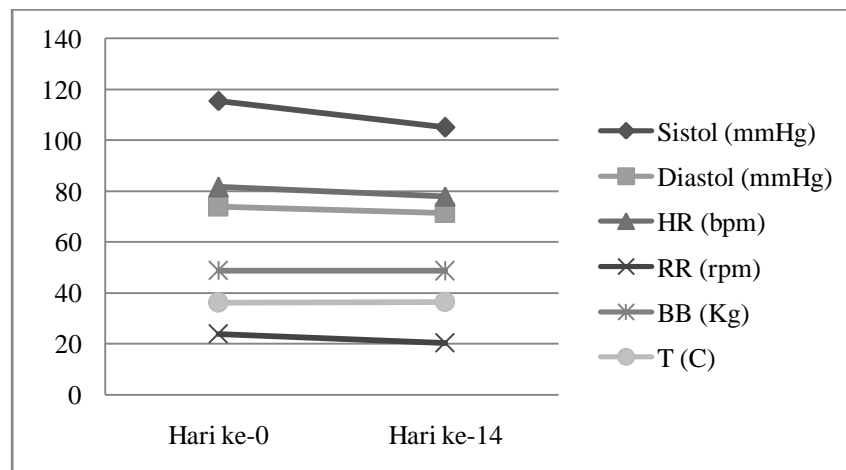
Vital sign	Rata-rata		Sig	Analisis
	Hari ke-0	Hari ke-14		
Sistol (mmHg)	121 ± 6,583	109,5 ± 13,427	0,018	Wilcoxon Test
Diastol (mmHg)	75 ± 4,082	68,5 ± 7,472	0,009	Wilcoxon Test
HR (bpm)	77,6 ± 7,351	75,2 ± 7,495	0,370	Paired Samples t Test
RR (rpm)	22,2 ± 2,201	19,4 ± 1,897	0,014	Wilcoxon Test
BB (Kg)	66,55 ± 14,818	66,55 ± 14,247	1,000	Paired Samples t Test
T (C)	36,83 ± 0,377	35,31 ± 3,214	0,013	Wilcoxon Test

Tabel 6 . Nilai pemeriksaan *vital sign* relawan sehat perempuan pada hari ke 0 dan hari ke-14relawan sehat pemberian kapsul ekstrak etanol akar pasak bumi

Vital sign	Rata-rata		Sig	Analisis
	Hari ke-0	Hari ke-14		
Sistol (mmHg)	115,5 ± 12,122	105 ± 11,547	0,000	Paired Samples t Test
Diastol (mmHg)	74 ± 5,164	71,5 ± 5,798	0,025	Wilcoxon Test
HR (bpm)	81,6 ± 8,784	78 ± 10,541	0,302	Paired Samples t Test
RR (rpm)	23,8 ± 4,158	20,3 ± 2,111	0,027	Wilcoxon Test
BB (Kg)	48,75 ± 8,080	48,63 ± 7,707	0,780	Paired Samples t Test
T (C)	36,26 ± 0,495	36,35 ± 0,493	0,573	Wilcoxon Test



Gambar 1. Data *vital sign* relawan sehat laki-laki pada hari ke 0 dan hari ke-14 pemberian kapsul ekstrak etanol akar pasak bumi



Gambar 2. Data *vital sign* relawan sehat perempuan pada hari ke 0 dan hari ke-14 pemberian kapsul ekstrak etanol akar pasak bumi

**EFEK KAPSUL EKSTRAK ETANOL AKAR PASAKBUMI
(*Eurycoma longifolia* Jack) TERHADAP HEMATOLOGI DARAH PADA
SUKARELAWAN SEHAT**

¹⁾Laela Hayu Nurani, ²⁾Sitarina Widyarini, ³⁾Fara Azzahra

^{1,3)}Universitas Ahmad Dahlan ²⁾Universitas Gadjah Mada

¹⁾laelafarmasi@yahoo.com, ²⁾sitarina@ugm.ac.id, ³⁾faraazzahra92@gmail.com

Abstrak

Akar pasak bumi (*Eurycoma longifolia*, Jack) memiliki banyak aktivitas terhadap kesehatan manusia. Berdasarkan aktivitas yang dikaji, penggunaan akar pasak bumi sebagai obat tradisional perlu diupayakan dalam bentuk sediaan yang efektif dengan dosis yang tepat. Sediaan yang mudah dibuat, yaitu berupa kapsul. Untuk mengetahui pengaruh kapsul ekstrak etanol akar pasak bumi (*Eurycoma longifolia*, Jack) diperlukan pengujian terhadap profil hematologi darah. Sejauh ini efek penggunaan akar pasak bumi dalam jumlah besar dapat menyebabkan sulit tidur dan meningkatkan suhu tubuh. Parameter yang digunakan adalah hemoglobin, eritrosit, hematokrit, leukosit, trombosit, hitung jenis leukosit (limfosit, monosit, neutrofil, eosinofil, monosit), RDW, Indeks Eritrosit (MCV, MCH, MCHC) dan laju endap darah (LED).

Sebanyak 20 orang sukarelawan sehat dibagi menjadi 2 kelompok, yaitu 10 orang laki-laki dan 10 orang perempuan yang memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi. Kedua kelompok diberikan kapsul ekstrak etanol akar pasak bumi selama 14 hari dengan dosis 300 mg ekstrak sebanyak 1 kali 2 kapsul, diminum satu kali sehari diminum pada malam hari sebelum tidur. Penelitian ini menggunakan rancangan *pre-post treatment design study*. Sebelum diberi perlakuan diambil terlebih dahulu sampel darah dari kedua kelompok untuk diukur nilai parameter hematologi darah. Pada hari ke-14 diambil sampel darah untuk ditetapkan nilai parameter hematologi darah setelah perlakuan. Hasil yang didapatkan dibandingkan secara statistik menggunakan *Paired T-test* ($p < 0.05$). Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian kapsul ekstrak etanol akar pasak bumi tidak mempengaruhi terhadap nilai parameter hematologi darah pada sukarelawan sehat laki-laki. Namun, berpengaruh terhadap nilai MCV dan LED pada sukarelawan sehat perempuan.

Keywords: Pasak Bumi, kapsul, hematologi darah, keamanan

Pendahuluan

Pasak bumi (*Eurycoma longifolia* Jack) merupakan salah satu jenis tumbuhan asli Indonesia (Minorsky, 2004). Semua bagian pada tumbuhan dari pasak bumi dikenal memiliki banyak manfaat baik yang telah diteliti secara ilmiah maupun hanya berdasarkan keyakinan turun temurun saja.

Pasak bumi mengandung *eurycomanone* yang terbukti sebagai agen imunogen atau imunomodulator (Ang *et al.*, 2002). Beberapa penelitian menunjukkan bahwa, ekstrak etanol akar pasak bumi yang diberikan kepada tikus betina galur SD selama 14 hari terbukti mampu berefek sebagai imunostimulator dengan mekanisme meningkatkan aktivitas proliferasi limfosit secara signifikan dibanding kelompok kontrolnya (Falah *et al.*, 2011). Hasil uji tolerabilitas pada manusia menunjukkan bahwa pemberian ekstrak air akar pasak bumi terstandar dosis 1,2 gram dua kali sehari selama 14 hari bersifat aman dan tidak menimbulkan efek samping yang berbahaya (Hayati, 2013).

Penggunaan akar pasak bumi sebagai obat tradisional harus aman dan tidak boleh menimbulkan efek samping yang membahayakan, serta dengan dosis tertentu harus memberikan efek terapeutik yang diharapkan. Saat ini, industri obat tradisional mulai mengembangkan tanaman yang berkhasiat obat tidak saja dalam bentuk serbuk tetapi sudah dibuat dalam bentuk ekstrak untuk menjamin sediaan mengandung zat aktif dengan dosis efektif untuk terapi. Pembuatan ekstrak tersebut biasanya industri obat menggunakan pelarut yang tidak berbahaya, seperti etanol (Serlahwaty *et al.*, 2008). Permasalahan ekstrak bahan alam adalah cenderung memiliki rasa yang tidak enak dan bau yang khas. Saat ini sediaan yang mudah

dibuat dan dapat menutupi rasa pahit dari akar pasak bumi serta penyimpanan lebih praktis. Oleh karena itu, untuk menutupi kekurangan bahan alam tersebut sediaan dibuat dalam bentuk kapsul (Roselyndiar, 2012).

Berdasarkan uraian diatas perlu dilakukan penelitian terhadap efek pemberian kapsul ekstrak etanol pasak bumi (*Eurycoma longifolia* Jack.) pada sukarelawan sehat untuk mengetahui pengaruhnya terhadap nilai hematologi darah sehingga dapat dipastikan fungsinya sebagai suplemen aman dikonsumsi.

Penelitian yang dilakukan oleh Al Salahi *et al.*, (2012) menunjukkan bahwa pemberian ekstrak metanol kasar dari akar pasak bumi selama 16 hari pada tikus jantan tidak mempengaruhi profil hematologi (hemoglobin, eritrosit, hematokrit, leukosit, trombosit menghitung, volume sel, dan sel korpuskular).

Pemeriksaan laboratorium dilakukan untuk mendapatkan informasi yang berguna bagi dokter dan apoteker dalam pengambilan keputusan klinik, salah satunya pemantauan keamanan obat (Kemenkes, 2011) Pemeriksaan laboratorium yang sering dilakukan adalah pemeriksaan hematologi darah. Hasil pemeriksaan tersebut secara tidak langsung dapat memantau keadaan dalam tubuh (Yakubu *et al.*, 2009; Ifeanyi *et al.*, 2014). Untuk meningkatkan keamanan penggunaan kapsul ekstrak etanol akar pasak bumi diperlukan pengukuran laboratorium parameter hematologi darah.

Pemeriksaan hematologi darah, meliputi hemoglobin, eritrosit, hematokrit, leukosit, trombosit, hitung jenis leukosit (limfosit, monosit, neutrofil, eosinofil, monosit), RDW, Indeks Eritrosit (MCV, MCH, MCHC) dan laju endap darah (LED).

Sejauh ini di laporkan bahwa efek penggunaan akar pasak bumi dalam jumlah besar dapat menyebabkan sulit tidur dan meningkatkan suhu tubuh (Minorsky, 2004).

Bahan dan Metode

Kriteria Pemilihan Subjek

Pemilihan sukarelawan sehat dalam penelitian ini telah memenuhi kriteria inklusi, yaitu laki-laki dan wanita berumur 18–50 tahun dan bersedia mengisi *informed consent*, sukarelawan sehat yang dinyatakan sehat dibuktikan dengan surat keterangan sehat, tidak merokok tidak mengonsumsi obat lain, vitamin atau suplemen kesehatan, serta tidak memenuhi kriteria eksklusi, yaitu meliputi subjek yang *drop out* (tidak kooperatif) ketika penelitian sedang berjalan, BMI >30 kg/m² dan wanita hamil dan menyusui.

Cara Penelitian Klinik

Sukarelawan sehat dalam penelitian ini berjumlah 20 orang yang dibagi dalam dua kelompok berdasarkan jenis kelamin, yaitu 10 orang laki-laki dan 10 orang perempuan. Sukarelawan sehat akan diukur nilai parameter hematologi darah sebelum dan sesudah mengonsumsi kapsul ekstrak etanol akar pasak bumi yang berisi 300 mg ekstrak sebanyak 1 kali 2 kapsul, diminum satu kali sehari pada malam hari sebelum tidur selama 14 hari (Kanokkangsada, 2016).

Parameter hematologi darah yang diukur dalam penelitian ini, yaitu hemoglobin, eritrosit, hematokrit, leukosit, trombosit, hitung jenis leukosit (limfosit, monosit, neutrofil, eosinofil, monosit), RDW, Indeks Eritrosit (MCV, MCH, MCHC)

dan laju endap darah (LED). Pemeriksaan darah dilakukan di Parahita *Diagnostic Center*.

Hasil dan Pembahasan

Karakteristik Subjek dan Demografi

Sukarelawan sehat dalam penelitian ini berjumlah 20 orang yang terdiri dari 10 orang sukarelawan sehat laki-laki dan 10 orang sukarelawan sehat perempuan. Sukarelawan sehat berusia 18-55 tahun dengan rata-rata BMI 16,69-27,77 kg/m² untuk sukarelawan sehat laki-laki dan 15,82-25,0 kg/m² untuk sukarelawan sehat perempuan. Karakteristik sukarelawan sehat dan demografi disajikan pada tabel 1.

Pemeriksaan Hematologi Darah

Hasil pemeriksaan hematologi darah setelah pemberian kapsul ekstrak etanol akar pasak bumi selama 14 hari disajikan pada Tabel 2 untuk sukarelawan sehat laki-laki dan Tabel 3 untuk sukarelawan sehat perempuan.

Hasil uji statistik menunjukkan nilai parameter hematologi darah pada sukarelawan sehat laki-laki menunjukkan tidak ada perbedaan statistik ($p > 0,05$) antara sebelum dan setelah pemberian kapsul ekstrak etanol akar pasak bumi (Tabel 2), tetapi pada sukarelawan sehat perempuan adanya perbedaan tidak bermakna pada parameter MCV dan LED jam I dan jam II antara sebelum dan setelah pemberian kapsul ekstrak etanol akar pasak bumi (Tabel 3).

Mean Corpuscular Volume (MCV) atau Volume Eritrosit Rata-rata, yaitu indeks untuk menentukan ukuran sel darah merah. MCV menunjukkan ukuran sel darah merah tunggal (Cahyo, 2013). Penurunan nilai MCV terlihat pada pasien

anemia kekurangan besi, anemia pernisiiosa dan talasemia, disebut juga anemia mikrositik. Sedangkan, Peningkatan nilai MCV terlihat pada penyakit hati, alcoholism, terapi antimetabolik, kekurangan folat/vitamin B12, dan terapi valproat, disebut juga anemia makrositik (Kemenkes, 2011).

Nilai Laju Endap Darah (LED) merupakan indikator yang peka terhadap suatu perubahan yang terjadi pada sistem imun. Pemeriksaan LED biasanya digunakan untuk memonitor suatu penyakit yang dicurigai akut dan kronis parah. Ketika terjadinya suatu infeksi maka nilai LED akan naik, sedangkan jika tidak terdapat suatu infeksi yang parah maka nilai LED akan turun atau normal (Brigden, 2005).

Hasil penelitian menunjukkan bahwa, pemberian kapsul ekstrak etanol akar pasak bumi selama 14 hari tidak mempengaruhi hematologi darah pada sukarelawan sehat laki-laki, tetapi berpengaruh tidak signifikan pada sukarelawan sehat perempuan pada parameter MCV dan LED jam I dan jam II karena nilai dari parameter tersebut masih dalam batas normal.

Hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan Henkel (2013), pemberian kapsul akar pasak bumi tidak berpengaruh pada parameter hematologi darah. Penelitian yang sama juga diperoleh dalam penelitian Muhamad *et al.*, (2010) dan Ooi *et al.*, (2003), tetapi tidak sesuai dengan parameter MCV dan dan LED jam I dan jam II pada sukarelawan sehat perempuan dalam penelitian ini.

KESIMPULAN

Pemberian kapsul ekstrak etanol akar pasak bumi tidak mempengaruhi terhadap nilai parameter hematologi darah, yaitu hemoglobin, eritrosit, hematokrit, leukosit, trombosit, hitung jenis leukosit (limfosit, monosit, neutrofil, eosinofil, monosit), RDW, Indeks Eritrosit (MCV, MCHC) dan laju endap darah (LED) ($p > 0,05$)

pada sukarelawan sehat laki-laki Pemberian kapsul ekstrak etanol akar pasak bumi berpengaruh terhadap nilai MCV dan LED ($p < 0,05$) pada sukarelawan sehat perempuan, tetapi nilai dari parameter tersebut masih dalam batas normal.

UCAPAN TERIMAKASIH

Terimakasih disampaikan kepada DIKTI atas hibah Tim Pascasarjana tahun anggaran 2015/2016 dengan Nomor: PDD-002/PS3/III/2016 tanggal 25 Maret 2016.

REFERENSI

- Ang, H., Ngai, T.H., 2001. Aphrodisiac evaluation in non copulator male rats after chronic administration of *Eurycomalongifolia*, Jack, *Fundam Clin Pharmacol.*15(4):265-268 [DOI. 10.1046/j.1472-8206.2001.00038.x]
- Al-Salahi OSA., Zaki AH., Chan KL., Shah AM., Abdullah WZ & Yusoff NM. 2012. The *in-vivo* effects of partially purified sub-fraction (TAF2) of the crude methanolic extract of *Eurycoma longifolia* roots on the haematological, biochemical and histology parameters, *Int J Pharm Sci Res.* 3 (9). 3101-3105 [http://dx.doi.org/10.13040/IJPSR.0975-8232.3(9).3101-05]
- Bridgen, M. 2005. *Clinical Utility of the Erythrocyte Sedimentation Rate.* Canada : Cancer Agency
- Cahyo, Kris. 2013. Pemeriksaan Darah Lengkap. [Online]. <http://www.itd.unair.ac.id/files/pdf/protocol1>. Diakses tanggal 19 Juni 2016
- Falah, L. N., and Yuliani, S., 2011., Lymphocyte Proliferation Activity MTT-Test of Ethanolic Extract of Pasak Bumi Root (*Eurycoma longifolia* Jack) on Induced 7, 12-Dimethylbenz [A] Anthracene (DMBA) Female *Sprague Dawley* Rat. *Indonesian Journal of Cancer Chemoprevention*, 2(1)
- Hayati, Farida., 2013. Uji Praklinik dan Uji Klinik Fase I Ekstrak Air Akar Pasak Bumi (*Eurycoma longifolia*, Jack) Terstandar sebagai Afrodisiaka. *Disertasi.* Fakultas Kedokteran Universitas Gadjah Mada. Yogyakarta. [Online]. [http://etd.respository.ugm.ac.id/]. Diakses tanggal: 23 Juli 2016]
- Henkel., Rafl R., *et al.*, 2013. Tongkat Ali as a Potential Herbal Supplement for Physically Active Male and Female Seniors-A Pilot Study. *Phytotherapy Research* [http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/ptr.5017/full]
- Ifeanyi OE, Ndubusi OT, Leticia EOB & Uche EC, 2014, Haematological profile of pregnant women in Umuahia, Abia State, Nigeria, *Int J Curr Microbiol App Sci*, 3(1) [http://www.ijcmas.com]

- Kanokkangsadal, Puritat. 2016. *The Clinical Safety of Alcoholic Extract Sahastara Remedy of Extract Capsule in Healthy Volunteers*. Department of Applied Thai Traditional Medicine, Faculty of Medicine, ThammasatUniversity (Online). Diakses tanggal: 24 Juli 2016
[<https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT02568059>]
- Lewis SM. 2006. Reference range and normal values. *Dacie and Lewis Practical Haematology*. 10 thed: Churcill Livingstone Elsevier
[<http://www.sciencedirect.com/science/book/9780443066603>]
- Minorsky, P.V., 2004. On the insid. *Plant Physiology*. 131(3):1157-1158
[<http://www.plantphysiol.org/content/136/1/2577.full.pdf+html>]
- Muhamad, Ayu Suzailiana. 2010. Effects of *Eurycoma longifolia* Jack Supplementation Recreational Athletes' Endurance Running Capacity and Physiological Responses in the Heat, *International Journal of Applied Sports Sciences*. Vol. 22.No. 2. 1-19
[<https://www.researchgate.net/publication/260965080>]
- Roselyndiar, 2012, Formulasi Kapsul Kombinasi Ekstrak Herba Seledri (*Apium graveolens* L.) dan Daun Tempuyung (*Sonchus arvensis* L.), Skripsi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Indonesia
[<lib.ui.ac.id/file?file=digital/20295110-S1774-Formulasi%20Kapsul.pdf>]
- Serlahwaty, Diana, Yunahara Farida, 2008, Perbandingan Spektrum KLT-Densitometri Dari Ekstrak Jahe (*Zingiber officinale*Rosc) dengan Pelarut Etanol yang Berbeda Konsentrasinya, *Seminar Nasional & Kongres PATPI 2008 "Penerapan Ilmu dan Teknologi untuk Meningkatkan Kualitas dan Ketahanan Pangan dalam Memperluas Akses Pasar*, Fakultas Farmasi, Universitas Pancasila[<http://dosen.univpancasila.ac.id/dosenfile/2087211012138855663001January2014.pdf>]
- Ooi, F. K., Singh, R., Sirisinghe, R. G., Ang, B. S., & Sahil Jamalullail, S. M., 2003. Effects of a herbal drink on cycling endurance performance. *Mal. J. Nutr.* 10(1).78-85
[<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3557114/pdf/mjms-10-1-078.pdf>]
- Yakubu MT & Afolayan AJ, 2009, Effect of aqueous extract of *Bulbine natalensis* Baker stem on haematological and serum lipid profile of male wistar rats, *Indian J Exp Biol*, 47, 283-288 [www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19382725]

Tabel 32. Karakteristik Subjek dan Demografi Laki-Laki dan Perempuan

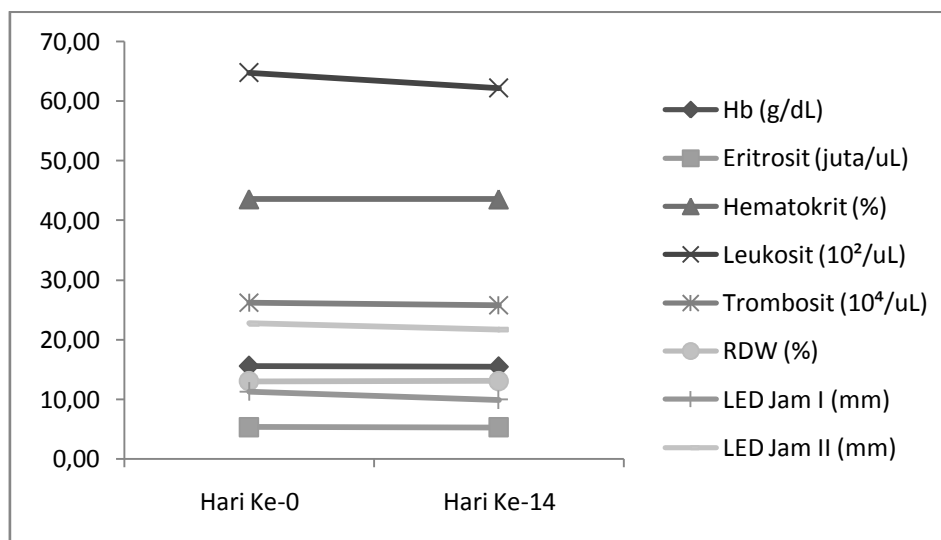
Karakteristik Sukarelawan sehat	Kelompok (Mean±SD)	
	Laki-laki	Perempuan
Umur (Tahun)	24,9±7,82	22,3±1,58
Rentang	18-42	20-25
Berat Badan (Kg)	66,55±14,82	48,75±8,08
Rentang	46-91	39-64
Tinggi Badan (cm)	170,82±8,65	154,8±5,97
Rentang	159-187	146-163
BMI (kg/m²)	22,61±3,48	20,45±2,93
Rentang	16,69-27,77	15,82-25,0

Tabel 33. Perbandingan Nilai Rata-rata Hematologi Darah Sukarelawan sehat Laki-laki Pada Hari ke-0 dan Hari ke-14

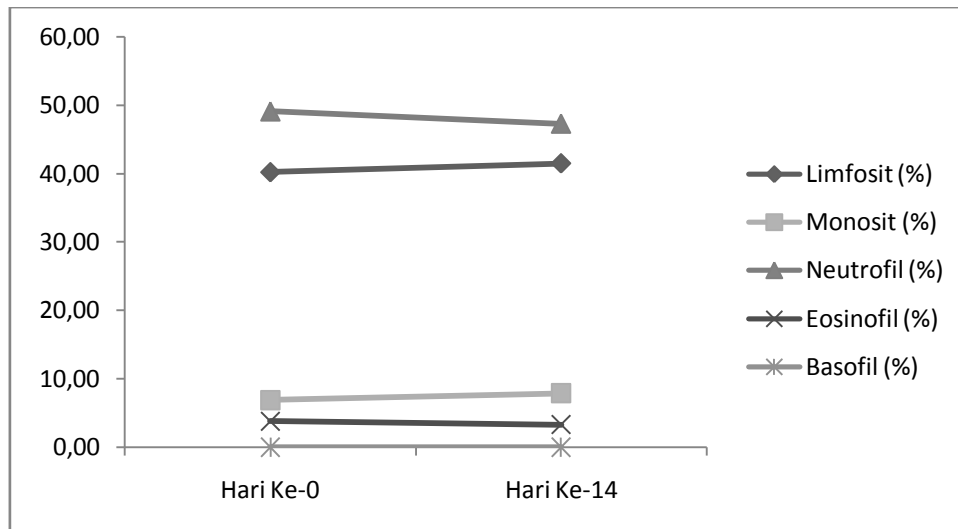
Parameter	Hari Ke-0	Hari Ke-14	<i>p</i>
Hemoglobin (g/dL)	15,58±0,82	15,46±0,86	0,512
Eritrosit (juta/uL)	5,32±0,37	5,30±0,35	0,825
Hematokrit (%)	43,55±2,47	43,53±2,09	0,967
Leukosit (10 ² /uL)	64,73±10,29	62,18±13,27	0,283
MCV (fl)	82,06±3,29	82,24±3,27	0,212
MCH (pg)	29,25±1,06	29,21±1,21	0,662
MCHC (g/dL)	35,66±0,92	35,51±0,84	0,264
RDW (%)	13,00±0,61	13,05±0,54	0,622
Trombosit (10 ⁴ /uL)	26,17±2,49	25,77±3,45	0,596
Limfosit (%)	40,20±4,13	41,50±6,33	0,556
Monosit (%)	6,90±1,52	7,90±2,13	0,158
Neurofil (%)	49,10±4,48	47,30±7,76	0,464
Eosinofil (%)	3,80±1,87	3,30±1,49	0,413
Basofil (%)	0±0	0±0	0
LED jam I (mm)	11,30±13,48	9,90±8,27	0,953
LED jam II (mm)	22,70±22,63	21,70±16,36	1,000

Tabel 34. Perbandingan Nilai Rata-rata Hematologi Darah Sukarelawan sehat Perempuan Pada Hari ke-0 dan Hari ke-14

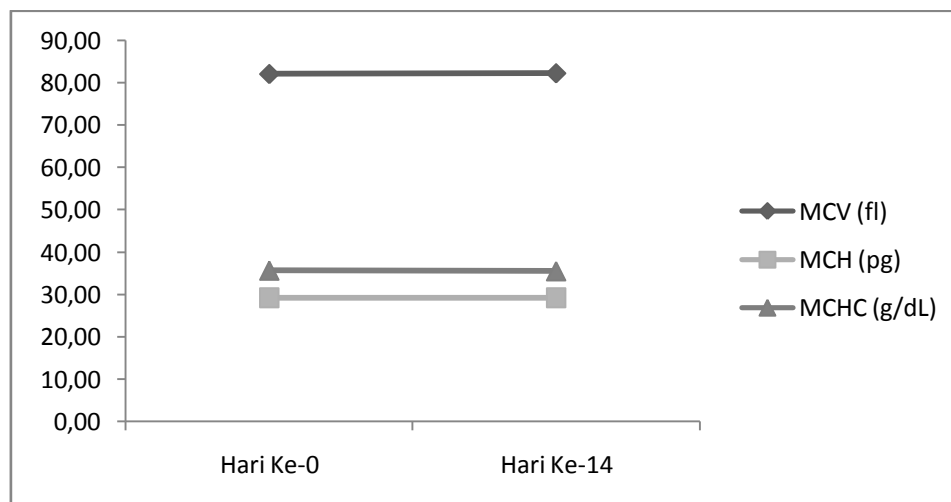
Parameter	Hari Ke-0	Hari Ke-14	<i>p</i>
Hemoglobin (g/dL)	13,52±0,51	13,43±0,59	0,645
Eritrosit (juta/uL)	4,82±0,28	4,77±0,36	0,391
Hematokrit (%)	38,79±1,07	38,7±1,41	0,827
Leukosit (10 ² /uL)	67,88±9,40	73,15±16,17	0,154
MCV (fl)	80,75±5,88	81,49±6,02	0,032
MCH (pg)	28,11±2,09	28,28±2,17	0,145
MCHC (g/dL)	34,84±0,94	34,69±0,78	0,307
RDW (%)	13,03±0,78	13,12±0,74	0,193
Trombosit (10 ⁴ /uL)	28,95±5,55	28,69±6,50	0,577
Limfosit (%)	35,5±6,96	35,20±9,27	0,868
Monosit (%)	6,40±1,43	5,60±1,26	0,182
Neurofil (%)	54,80±9,24	55,4±11,44	0,777
Eosinofil (%)	3,30±3,13	3,80±3,68	0,301
Basofil (%)	0±0	0±0	0
LED jam I (mm)	13,70±0,78	8,80±4,71	0,005
LED jam II (mm)	27,20±11,44	20,80±8,48	0,004



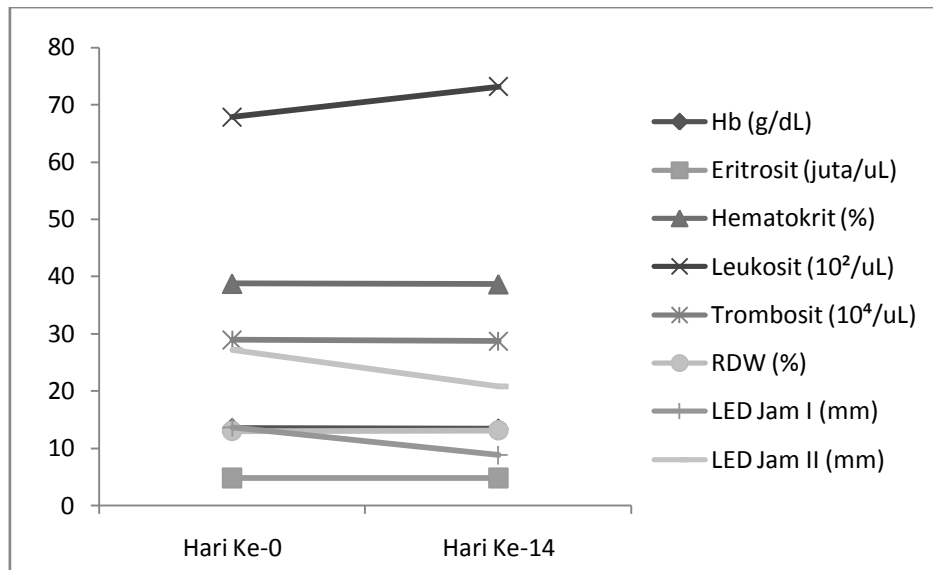
Gambar 25. Diagram Perbedaan Nilai Hemoglobin, Eritrosit, Hematokrit, Leukosit, Trombosit, RDW, LED jam I dan LED jam II Pada Sukarelawan sehat Laki-laki Hari Ke-0 dan Hari Ke-14 Pemberian Kapsul Ekstrak Etanol Akar Pasak Bumi



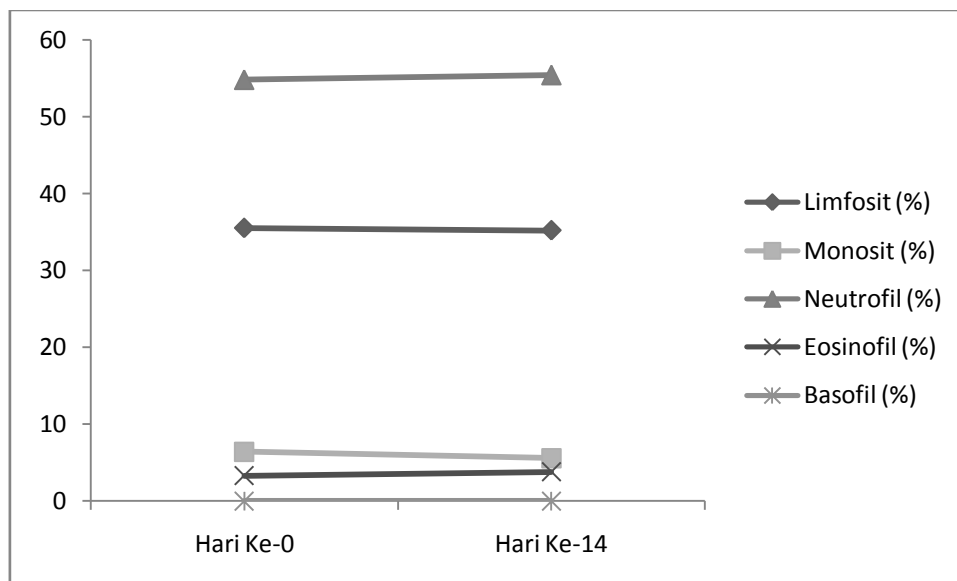
Gambar 26. Diagram Perbedaan Limfosit, Monosit, Neutrofil, Eosinofil dan Basofil Pada Sukarelawan sehat Laki-laki Hari Ke-0 dan Hari Ke-14 Pemberian Kapsul Ekstrak Etanol Akar Pasak Bumi



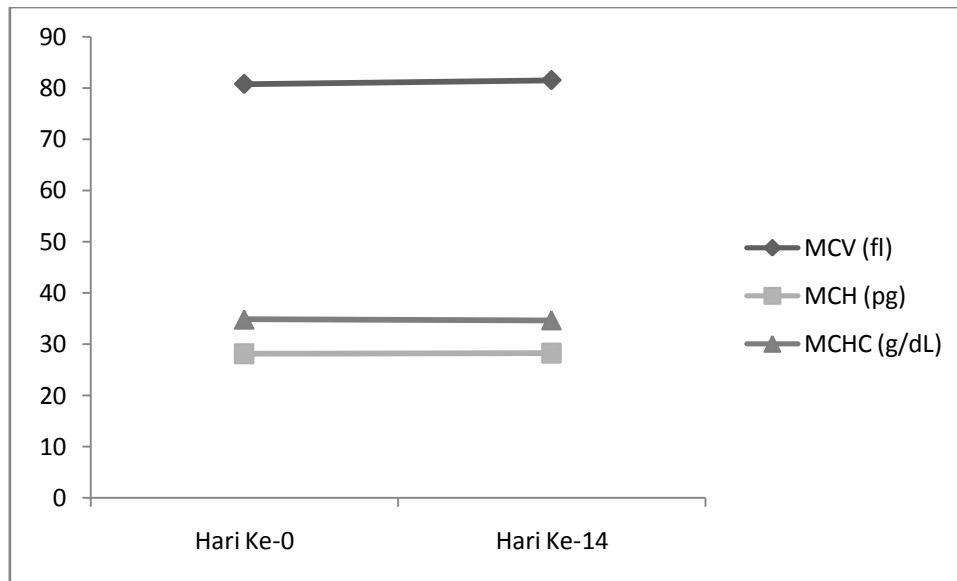
Gambar 27. Diagram Perbedaan MCV, MCH dan MCHC Pada Sukarelawan sehat Laki-laki Hari Ke-0 dan Hari Ke-14 Pemberian Kapsul Ekstrak Etanol Akar Pasak Bumi



Gambar 28. Diagram Perbedaan Nilai Hemoglobin, Eritrosit, Hematokrit, Leukosit, Trombosit, RDW, LED jam I dan LED jam II Pada Sukarelawan sehat Perempuan Hari Ke-0 dan Hari Ke-14 Pemberian Kapsul Ekstrak Etanol Akar Pasak Bumi



Gambar 29. Diagram Perbedaan Limfosit, Monosit, Neutrofil, Eosinofil dan Basofil Pada Sukarelawan sehat Perempuan Hari Ke-0 dan Hari Ke-14 Pemberian Kapsul Ekstrak Etanol Akar Pasak Bumi



Gambar 30. Diagram Perbedaan MCV, MCH dan MCHC Pada Sukarelawan sehat Perempuan Hari Ke-0 dan Hari Ke-14 Pemberian Kapsul Ekstrak Etanol Akar Pasak Bumi

**EFEK KAPSUL EKSTRAK ETANOL AKAR PASAK BUMI
(*Eurycoma longifolia*, Jack) TERHADAP FUNGSI HATI, GINJAL DAN PROFIL
LEMAK PADA RELAWAN SEHAT**

Laela Hayu Nurani^a, Lukita Wiguna^b, Abdul Rohman^c, Sita Rina Widyarini^d, Akrom^e

^{a,b,e}Fakultas Farmasi, Universitas Ahmad Dahlan, Yogyakarta, Indonesia; ^cFakultas Farmasi, Universitas Gajah Mada, Yogyakarta, Indonesia; ^dFakultas Kedokteran Hewan, Universitas Gajah Mada, Yogyakarta, Indonesia

Email: laelafarmasi@yahoo.com

Abstract

Tujuan penelitian ini untuk mengetahui efek pemberian kapsul ekstrak etanol akar pasak bumi (*Eurycoma longifolia*, Jack) terhadap fungsi hati, fungsi ginjal dan profil lemak tubuh manusia sehat. Subjek uji dibagi menjadi 2 kelompok yaitu 10 laki-laki dan 10 perempuan. Diberikan kapsul ekstrak akar pasak bumi dengan dosis 300mg per hari selama 14 hari. Pemeriksaan darah dilakukan sebelum probandus mengkonsumsi kapsul, setelah mengkonsumsi kapsul selama 14 hari, dan terakhir pada hari ke 42. Analisis hasil dilakukan dengan menggunakan uji *T-test*. Hasil pemeriksaan menunjukkan tidak adanya perbedaan yang bermakna pada hasil pemeriksaan sebelum dan sesudah pemberian kapsul.

Pendahuluan

Akar pasak bumi merupakan salah satu tanaman obat tradisional yang memiliki potensi besar sebagai salah satu sumber obat baru¹. Manfaat akar pasak bumi yang paling banyak digunakan ialah sebagai aprodisiaka, disfungsi seksual³ dan manfaat lainnya ialah sebagai pengobatan nyeri, demam, pembengkakan kelenjar, kanker dan sebagai suplemen kesehatan².

Akar pasak bumi mengandung kuasinoid⁴, dimana kuasinoid ini merupakan salah satu zat aktif yang paling banyak ditemukan di akar pasak bumi. Contoh dari golongan ini ialah erycomanone dan eurycomanol⁵. Quasinoid sendiri memiliki efek anti inflamasi, anti malaria dan sebagai anti proliferasi sel tumor⁵.

Sebagai obat tradisional, akar pasak bumi banyak diolah dengan cara merebusnya dengan air. Saat ini, telah banyak penyajian yang nyaman dan cepat untuk mengkonsumsi akar pasak bumi, salah satunya dengan menggunakan kapsul². Pemanfaat akar pasak bumi oleh masyarakat luas perlu diimbangi dengan kepastian keamanannya bagi tubuh manusia.

Uji keamanan akar pasak bumi pada berbagai hewan uji telah banyak dilakukan. Manfaat lainnya yaitu akar pasak bumi dapat menurunkan kadar lemak tubuh dan dapat meningkatkan kadar HDL pada manusia^{6,7}. Penelitian selanjutnya menyatakan bahwa akar pasak bumi tidak memengaruhi fungsi hati dan ginjal⁹. Disinggung pada sumber lain bahwa perlu dihindari untuk mengonsumsi akar pasak bumi pada laki-laki dengan gangguan prostat, gangguan hati, ginjal maupun jantung⁶.

Hal tersebut menambah pertanyaan keamanan sesungguhnya dari akar pasak bumi pada manusia, khususnya pada manusia sehat. Penelitian ini dilakukan guna dapat mengetahui pengaruh akar pasak bumi pada tubuh manusia sehat, dengan melihat fungsi hati, ginjal dan profil lemak.

Materials and methods

Subjek uji dibagi menjadi 2 kelompok yaitu 10 laki-laki dan 10 perempuan. Kriteria inklusi yang digunakan dalam penelitian ini adalah laki-laki dan wanita berumur 18–50 tahun dan bersedia menjadi subjek (mengisi *informed consent*), subjek sehat yang dibuktikan dengan surat keterangan sehat, tidak merokok tidak mengonsumsi obat lain, vitamin atau suplemen kesehatan. Kriteria eksklusi adalah subjek yang *drop out* (tidak kooperatif) ketika penelitian sedang berjalan, BMI ≥ 30 kg/m² dan wanita Hamil dan menyusui¹⁸.

Tahapan pertama dilakukan pemeriksaan kesehatan meliputi pemeriksaan *vital sign* oleh seorang dokter yang memiliki Surat Ijin Praktek. Tercapainya kriteria sehat, maka 20 probandus tersebut dapat melakukan pemeriksaan darah tahap pertama untuk melihat nilai fungsi hati, fungsi ginjal dan profil lemak sebelum mengonsumsi kapsul ekstrak akar pasak bumi. Masing-masing kelompok diberikan kapsul ekstrak akar pasak bumi dengan dosis 300mg dengan aturan minum 1 kali sehari 1 kapsul. Pada hari ke-14 diambil darah subjek

melalui vena untuk ditetapkan parameter profil lemak, fungsi hati dan ginjal. Monitoring dilakukan pada probandus selama 28 hari setelah pemberian kapsul ekstrak akar pasak bumi telah selesai. Pengambilan darah relawan sehat dilakukan di Parahita *Diagnostic Center* Yogyakarta. Analisis yang dilakukan ialah menggunakan perbandingan dengan uji *paired sample T-test* jika data terdistribusi normal, dan bila data tidak terdistribusi normal maka menggunakan uji *wilcoxon*.

Hasil dan pembahasan

Pemeriksaan Fungsi Hati

Penelitian ini memiliki 20 orang sukarelawan sehat dengan pengelompokan dan jumlah Terlihat pada Tabel 1.

Probandus dalam penelitian ini berjumlah dua puluh orang, yang dibagi dalam dua kelompok berdasarkan jenis kelamin. Kelompok pertama disebut sebagai kelompok Perempuan terdiri dari 10 probandus perempuan. Kelompok kedua disebut sebagai kelompok Laki-laki terdiri dari 10 orang probandus perempuan. Probandus harus dalam kategori tidak merokok, hami atau menyusui, tidak sedang mengkonsumsi obat atau suplemen lainnya selama penelitian berlangsung dan sehat didukung dengan pemeriksaan fisik oleh dokter yang meliputi pengukuran tekanan darah, denyut nadi, berat badan, tinggi badan, dan *respiration rate*.

Penelitian ini dilakukan dalam 3 tahap pemeriksaan. Pemeriksaan tahap I dilakukan pengukuran terhadap kadar SGPT, SGOT, bilirubin sebelum probandus mengkonsumsi kapsul ekstrak akar pasak bumi. Pemeriksaan tahap II dilakukan pengukuran terhadap 21 orang calon probandus untuk mengetahui calon probandus mana yang memenuhi kriteria. Total 21 orang calon probandus tersebut dipilih 20 orang yang memenuhi syarat untuk menjadi probandus yang akan mengkonsumsi kapsul ekstrak akar pasak bumi. Pemeriksaan

tahap II dilakukan setelah probandus mengkonsumsi kapsul ekstrak etanol akar pasak bumi selama 14 hari. Pemeriksaan tahap III dilakukan setelah probandus tidak mengkonsumsi kapsul ekstrak akar pasak bumi selama 28 hari.

Hasil Pemeriksaan tahap pertama Disajikan pada Tabel 2, dan grafik perbandingan nilai rata-rata parameter SGOT, SGPT dan total protein pada hari ke-0 dan hari ke-14 setelah mengkonsumsi kapsul ekstrak akar pasak bumi Disajikan pada Gambar 1 dan Gambar 2.

Serum transaminase adalah indikator yang peka pada kerusakan sel-sel hati. SGPT adalah enzim mikrosomal, sedangkan SGOT adalah enzim sitosolik. Kenaikan enzim-enzim tersebut merupakan tanda kerusakan sel-sel hati oleh karena virus, obat-obatan atau toksin. Kerusakan tersebut dapat menyebabkan hepatitis, karsinoma metastatik, kegagalan jantung dan penyakit hati granulomatus yang disebabkan oleh alkohol. Kenaikan kembali atau bertahannya nilai transaminase yang tinggi juga menunjukkan berkembangnya kelainan dan nekrosis hati. Meningkatnya kadar enzim-enzim hati di dalam darah mencerminkan tingkat kerusakan organ hati^{10,11}.

Akar pasak bumi sendiri memberikan efek yang tidak buruk bagi organ tubuh manusia khususnya pada organ hati. Pemberian akar pasak bumi pada tikus jantan tidak memengaruhi fungsi hati¹³. Serbuk akar pasak bumi dan *Curcumin* secara signifikan juga dapat menurunkan aktivitas SGPT dan SGOT terhadap tikus jantan. Sediaan serbuk akar pasak bumi mempunyai efek hepatoprotektif pada hewan uji tikus¹².

Uji toksisitas akut maupun subkronik serbuk akar pasak bumi tidak toksik pada hati maupun ginjal¹⁴. Disebutkan pula bahwa penggunaan akar pasak bumi setiap hari tidak membawa perubahan pada fungsi hati dan ginjal pada mencit, dimana LD₅₀ dari ekstrak alkoholik akar pasak bumi yaitu 1500-2000 mg/kg. Ekstrak air akar pasak bumi LD₅₀ berkisar pada 3000mg/kg¹. Diharapkan akar pasak bumi aman jika digunakan pada laki-laki ataupun perempuan dan tidak mempengaruhi keadaan atau fungsi organ dalam tubuh.

Gambar 1 dan Gambar 2 menunjukkan adanya perbedaan nilai SGOT dan SGPT pada hari ke-0 dan hari ke-14. Gambar 1 menunjukkan adanya penurunan pada nilai SGOT dan tidak adanya perbedaan bermakna antara rata-rata nilai SGPT relawan sehat laki-laki pada hari ke 14. Gambar 2 menunjukkan adanya perbedaan yaitu menurunnya kadar nilai SGOT dan SGPT pada hari ke-14 setelah diminumnya kapsul ekstrak akar pasak bumi selama 14 hari. Penurunan nilai SGOT dan SGPT ini merupakan perbedaan yang tidak signifikan karena masih dalam *range* normal, ditunjukkan pada hasil analisis uji *paired sample T-test* pada tabel yang menunjukkan perbedaan tidak bermakna antara sebelum dan sesudah mengkonsumsi kapsul ekstrak akar pasak bumi. Perlu diketahui bahwa penurunan nilai rata-rata SGOT dan SGPT ini dikarenakan akar pasak bumi dapat mengurangi pelepasan SGOT dan SGPT ke dalam darah¹². Akar pasak bumi dapat menekan sintesis enzim GOT dan GPT¹⁵. Hal ini menunjukkan bahwa kapsul akar pasak bumi tidak memiliki efek samping terhadap organ hati dan memiliki potensi sebagai hepatoprotektif¹².

Pemeriksaan Bilirubin

Hasil Pemeriksaan bilirubin dapat Disajikan pada Tabel 3, dan grafik perbandingan nilai rata-rata parameter bilirubin total, direk, dan indirek pada hari ke-0 dan hari ke-14 setelah mengkonsumsi kapsul ekstrak akar pasak bumi Disajikan pada Gambar 3 dan Gambar 4.

Pengaruh akar pasak bumi terhadap fungsi liver khususnya pada parameter bilirubin memang telah banyak diteliti baik pada hewan uji maupun pada manusia sehat maupun sakit. Diantaranya menyatakan bahwa akar pasak bumi tidak mempengaruhi kadar bilirubin dalam tubuh dalam pemberian dosis berapapun pada hewan uji tikus¹⁵

Bilirubin sendiri merupakan hasil perombakan dari hemoglobin yang ikut aliran empedu melewati hati. Apabila terjadi kerusakan hati, maka sirkulasi dari bilirubin akan terganggu. Kerusakan pada sel-sel hati yang mengakibatkan ekskresi melalui saluran empedu terhambat

akan menyebabkan *bilirubin direct* dalam serum meningkat. Namun, apabila yang terjadi adalah kegagalan dalam tahap konjugasi bilirubin dihati, maka *bilirubin indirec* yang akan meningkat.

Hasil pemeriksaan menunjukkan adanya perubahan nilai bilirubin pada hari ke-0 dan hari ke-14, dimana nilai bilirubin menurun pada hari ke-14. Hal ini dapat dikarenakan efek akar pasak bumi sebagai hepatoprotektif yang dapat melindungi sel hati sehingga tidak mengganggu sirkulasi bilirubin yang melewati hati dan tidak meningkatkan kadar enzim-enzim hati lainnya yang dapat diartikan sebagai kerusakan hati¹³.

Pemeriksaan Profil Lemak

Hasil Pemeriksaan profil lemak Disajikan pada Tabel 4, dan grafik perbandingan nilai rata-rata parameter profil lemak diantaranya total kolesterol, trigliserida, HDL, LDL dan rasio HDL/LDL pada hari ke-0 dan hari ke-15 setelah mengkonsumsi kapsul ekstrak akar pasak bumi Disajikan pada Gambar 5 dan Gambar 6.

Pasak bumi dilaporkan dapat meningkatkan jumlah masa lemak bebas dan dapat meningkatkan kekuatan otot dan tidak meningkatkan kadar lemak tubuh pada laki-laki⁷. Meningkatnya kadar kolesterol total, LDL (*Low Density Lipoprotein*) dan rendahnya HDL (*High Density lipoprotein*), merupakan tanda terjadinya sindrom metbaolik yang dapat menyebabkan resiko timbulnya penyakit lain meningkat. Kadar kolesesterol, trigliserid, dan HDL, LDL laki-laki dan perempuan dapat dipengaruhi oleh adanya hormon esterogen yang dapat melindungi dari resiko terjadinya aterosklerosis dini yang merupakan akibat dari tingginya kadar kolesesterol maupun kadar LDL. Perbedaan kadar profil lemak antara laki-laki dan perempuan juga dapat dipengaruhi oleh aktivitas yang dilakukan oleh masing masing individu⁷.

Hasil penelitian ini menunjukkan adanya peningkatan pada nilai kolesterol dan LDL. Sedangkan pada nilai HDL dan trigliserida menunjukkan penurunan nilai dari hari ke-0 dengan nilai pada hari ke-14.

Peningkatan nilai rata-rata kolesterol total ini menyebabkan meningkatnya nilai LDL sebagai protein pembawa kolesterol dalam darah. Akar pasak bumi sendiri memiliki potensi sebagai anti aterosklerosis dimana dapat mencegah adanya pengendapan kolesterol dalam pembuluh darah¹⁶. Peningkatan nilai kolesterol tersebut dapat dikatakan bukanlah akibat dari mengkonsumsi kapsul ekstrak akar pasak bumi.

Fungsi Ginjal

Hasil Pemeriksaan bilirubin dapat Disajikan pada Tabel 5, dan grafik perbandingan nilai rata-rata parameter fungsi ginjal yaitu BUN, kreatinin dan asam urat pada hari ke-0 dan hari ke-14 setelah mengkonsumsi kapsul ekstrak akar pasak bumi Disajikan pada Gambar 7 dan Gambar 8.

Kreatinin, BUN merupakan suatu parameter fungsi ginjal. Meningkatnya nilai BUN dan kreatinin dianggap sebagai pertanda terganggunya fungsi ginjal¹⁷. Hasil yang diperoleh seperti pada gambar 4 menunjukkan adanya peningkatan pada nilai rata-rata BUN. Nilai kreatinin dan asam urat menunjukkan penurunan nilai dari hari ke-0 dengan nilai hari ke-14.

Peningkatan nilai rata-rata BUN ini dapat dikarena beberapa hal. Salah satunya ialah adanya pengaruh dari metabolisme protein yang berlebihan di dalam tubuh oleh karena mengkonsumsi protein dalam jumlah yang cukup tinggi. Nilai ureum akan meningkat seiring dengan memakan makanan yang mengandung protein tinggi¹⁷. Dan peningkatan nilai rata-rata BUN ini masih dalam *range* normal. Akar pasak bumi tidak ada mempengaruhi fungsi ginjal baik sebelum maupun sesudah mengkonsumsi kapsul ekstrak akar pasak bumi.

Uji Statistik

Uji awal distribusi normal dilakukan dengan menggunakan uji *Shapiro-Wilk* karena sampel kurang dari 50, dengan taraf kepercayaan 95%. Data yang terdistribusi normal maka dapat dilanjutkan dengan uji *paired sample T-test*. Parameter yang tidak terdistribusi normal maka uji perbandingan rata-rata sebelum dan sesudah pemberian dilanjutkan menggunakan uji *wilcoxon*.

Uji perbandingan rata-rata ini menggunakan taraf kepercayaan 95%. H_0 adalah pemberian kapsul ekstrak akar pasak bumi tidak mempengaruhi nilai dari parameter fungsi hati, dan H_a berarti pemberian kapsul ekstrak akar pasak bumi mempengaruhi nilai dari parameter fungsi hati. Jika nilai signifikansi $P > 0,05$ maka H_0 diterima dan jika nilai signifikansi $P < 0,05$ maka H_0 ditolak. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa nilai signifikansi pada semua parameter fungsi hati, fungsi ginjal dan profil lemak ialah $P > 0,05$. Hal ini menunjukkan bahwa pemberian kapsul ekstrak akar pasak bumi selama 14 hari tidak mempengaruhi fungsi hati, fungsi ginjal dan profil lemak tubuh.

Kesimpulan

Kapsul ekstrak etanol akar pasak bumi dengan dosis 300 mg perhari tidak memberikan pengaruh terhadap fungsi hati, fungsi ginjal dan profil lemak tubuh manusia sehat.

Acknowledgement

Terimakasih disampaikan kepada DIKTI atas hibah Tim Pascasarjana tahun anggaran 2015/2016 dengan nomor: PDD-002/SP3/III/2016 tanggal 25 Maret 2016.

Daftar Pustaka

1. Rehman, S.U.; Choe, K.; Yoo, H.H. Review on a Traditional Herbal Medicine, *Eurycoma longifolia*, Jack (Tongkat Ali): Its Traditional Uses, Chemistry, Evidence-Based Pharmacology and Toxicology. *Molecules*. **2016**, *21*, 331; PMID: 26978330 <http://dx.doi.org/10.3390/molecules21030331>
2. Bhat, R.; Karim, A.A. Tongkat Ali (*Eurycoma longifolia*, Jack): A Review on Its Ethnobotany and Pharmacological Importance. *Fitoterapia*. **2010**, *81*, 7, 669–679; PMID: 20434529; <http://doi: 10.1016/j.fitote.2010.04.006>
3. Jiwajinda, S.; Santisopasri, V.; Murakami, A.; Hirai, N.; Ohigashi, H. Quassinoids from *Eurycoma longifolia* as plant growth inhibitors. *Phytochemistry*. **2001**, *58*, 959–962; PMID: 11684195; [http://doi.org/10.1016/S0031-9422\(01\)00333-8](http://doi.org/10.1016/S0031-9422(01)00333-8)
4. Miyake, K.; Tezuka, Y.; Awale, S.; Li, F.; Kadota, S. Quassinoids from *Eurycoma longifolia*. *J. Nat. Prod.* **2009**, *72*, 2135–2140. PMID: 19919052; <http://dx.doi.org/10.1021/np900486f>
5. Fiaschetti, G.; Grotzer, M.; Shalaby, T.; Castelletti, D.; Arcaro, A. Quassinoids: From traditional drugs to new cancer therapeutics. *Curr. Med. Chem.* **2010**, *18*, 316–328. PMID: 21143123; <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21143123>
6. Ulbricht, C.; Conquer, J.; Flanagan, K.; Isaac, R.; Rusie, E.; Windsor, R.C. An Evidence Based Systematic Review of Tongkat Ali (*Eurycoma longifolia*) by the Natural Standard Research Collaboration. *J. Diet. Suppl.* **2013**, *10*, 54–83. PMID: 23419023; <http://dx.doi.org/10.3109/19390211.2012.761467>
7. Hamzah S, Yusof, A. The ergogenic effects of *Eurycoma longifolia* Jack: a pilot study. *Brit J Sport Med.* **2003**, *37*(5):465–466. <http://repository.um.edu.my/id/eprint/72682>
8. Henkel, R.R.; Wang, R.; Bassett, S.H.; Chen, T.; Liu, N.; Zhu, Y.; Tambi, M.I. Tongkat Ali as a potential herbal supplement for physically active male and female seniors—A pilot study. *Phytother. Res.* **2014**, *28*, 544–550. PMID: 23754792; <http://dx.doi.org.10.1002/ptr.5017>
9. Chen, C.K.; Mohamad, W.M.Z.W.; Ooi, F.K.; Ismail, S.B.; Abdullah, M.R.; George, A. Supplementation of *Eurycoma longifolia* Jack Extract for 6 Weeks Does Not Affect Urinary Testosterone: Epitestosterone Ratio, Liver and Renal Functions in Male Recreational Athletes. *Int. J. Prev. Med.* **2014**, *5*, 728–733. PMID: 25013692; <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25013692>
10. Buraimoh, A.A., I.G. Bako, and F.B. Ibrahim. Hepatoprotective effect of ethanolic leave extract of *Moringa oleifera* on the histology of paracetamol induced liver damage in wistar rats. *Int. J. Anim. Vet. Adv.* **2011**, *3*(1), 10–13; <http://maxwellsci.com/print/ijava/v3-10-13.pdf>
11. Domitrović, R., H. Jakovac, and G. Blagojević. Hepatoprotective activity of berberine is mediated by inhibition of TNF- α , COX-2, and iNOS expression in CCl₄ intoxicated mice. *Toxicology*. **2011**, *280*:33–43; 21095217; <http://doi:10.1016/j.tox.2010.11.005>

12. Adikusuma W, Bachri M,S. 2014. Efek Hepatoprotektif Serbuk Akar Pasak Bumi (*Eurycoma longifolia* Jack.) Dilihat Dari Aktivitas SGPT-SGOT Tikus Jantan Yang Diinduksi CCl₄. *Pharmaciana*, **2014**, 4(2), 165-170. <http://dx.doi.org/10.12928/pharmaciana.v4i2.1574>
13. Panjaitan, R.G.P, Handharyani E, Chairul & Manalu W. Hepatoprotective activity of *Eurycoma longifolia*, Jack. roots, *Indian J Tradit Knowle*, **2013**, 12(2), 225-230. [http://nopr.niscair.res.in/bitstream/123456789/16865/1/IJTK%2012\(2\)%20225-230.pdf](http://nopr.niscair.res.in/bitstream/123456789/16865/1/IJTK%2012(2)%20225-230.pdf)
14. Ching-H. L, Jiunn-W. Liao, Po-Lin Liao, Wei-K. Huang, Ling-S. Tse, Cheng-H. Lin, J. Jou Kang, and Yu-W. Cheng. Evaluation of Acute 13-Week Subchronic Toxicity and Genotoxicity of the Powdered Root of Tongkat Ali (*Eurycoma longifolia* Jack). *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, **2013**: 11. PMID: 24062779, <http://dx.doi.org/10.1155/2013/102987>
15. Al-Faqeh, H.H. Muhammad, B.Y. Mohammed. E. Nafie, Khorshid, A. The Effect Of *Eurycoma Longifolia* Jack (Tongkat Ali) On Carbon Tetrachloride-Induced Liver Damage In Rats, *Malaysian Journal of Pharmaceutical Sciences*, **2010**, 8, 2, 71–84. http://web.usm.my/mjps/mjps08022010/mjps08022010_6.pdf
16. Joufi-Al.F., Imad M. Al-Ani, Anil K. Saxena, Norlelawati A. Talib, Rafidah H. Mokhtar, Norsidah Ku-Zaifah. Assessment of anti-atherosclerotic effect of *Eurycoma longifolia* extract on high-fat diet model in rats. I: Histological study. *Eur. J. Anat.* **2016**, 20(2), 131-136. <http://eurjanat.com/data/pdf/eja.150350ia.pdf>
17. Ronco C, Ricci Z, De Backer D, et al. Renal replacement therapy in acute kidney injury: controversy and consensus. *Critical Care*. **2015**;19(1):146; <http://doi:10.1186/s13054-015-0850-8>.
18. Mulyadi, Sugiyanto, Hubies, A.A, Ismadi, M. Pharmacokinetic profile of carbamazepine and its metabolites on Javanese and Chinese ethnics in Indonesia = Profil farmakokinetika karbamazepin dan metabolitnya pada sukarelawan sehat etnik Jawa dan Cina di Indonesia. *Majalah Farmasi Indonesia*, 2010, 21, 1; <http://i-lib.ugm.ac.id/jurnal/detail.php?dataId=12254>

TABLES AND FIGURES

Tabel 1. Jumlah sukarelawan sehat uji efek kapsul ekstrak akar pasak bumi terhadap fungsi hati, ginjal dan profil lemak tubuh.

Kelompok	Jumlah (orang)
Perempuan	10
Laki-laki	10
Total	20

Tabel 2. Perbandingan nilai rata-rata SGOT, SGPT dan total protein relawan sehat pada hari ke-0 dan hari ke-14 setelah pemberian kapsul akar pasak bumi

Parameter	Hari ke-0	Hari ke-14	Sig.
Laki-laki			
SGOT (U/L)	21,25 ± 7,58	20,05 ± 7,64	0,191
SGPT (U/L)	22,11 ± 9,23	22,71 ± 8,41	0,700
Total Protein	7,80 ± 0,51	7,64 ± 0,25	0,135
Perempuan			
SGOT (U/L)	16,28 ± 2,92	14,09 ± 2,88	0,075
SGPT (U/L)	11,89 ± 3,30	10,96 ± 4,42	0,646
Total Protein	7,43 ± 0,39	7,12 ± 0,45	0,018

Tabel 3. Perbandingan nilai Bilirubin relawan sehat pada hari ke-0 dan hari ke-14 pemberian kapsul ekstrak akar pasak bumi

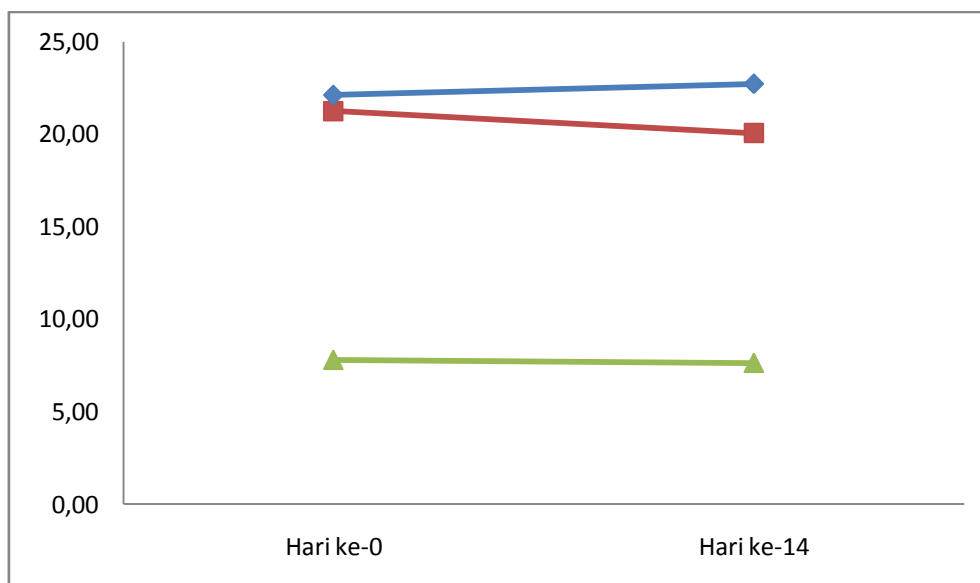
Parameter (mg/dL)	Hari ke-0	Hari ke-14	Sig.
Laki-laki			
Bil. Total	0,82 ± 0,18	0,95 ± 0,35	0,127
Bil. Direk	0,28 ± 0,06	0,31 ± 0,10	0,218
Bil. Indirek	0,55 ± 0,12	0,64 ± 0,25	0,086
Perempuan			
Bil. Total	0,70 ± 0,35	0,64 ± 0,16	0,443
Bil. Direk	0,26 ± 0,11	0,23 ± 0,77	0,286
Bil. Indirek	0,45 ± 0,23	0,41 ± 0,10	0,173

Tabel 4. Perbandingan nilai profil lemak relawan sehat pada hari ke-0 dan hari ke-14 pemberian kapsul ekstrak akar pasak bumi

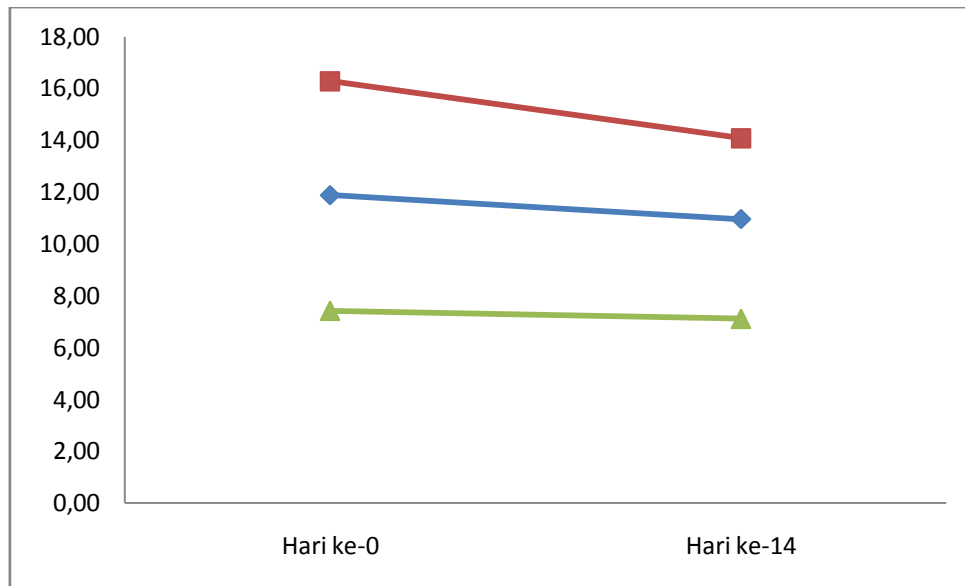
Parameter (mg/dL)	Hari ke-0	Hari ke-14	Sig.
Laki-laki			
Kol.total	183,40 ± 20,35	187,60 ± 24,49	0,399
Trigliserida	100,70 ± 26,77	110,30 ± 29,89	0,325
HDL	47,40 ± 12,25	47,50 ± 8,59	0,956
LDL	116,40 ± 18,19	119,60 ± 21,54	0,364
Ratio HDL/LDL	2,60 ± 0,77	2,63 ± 0,73	0,807
Perempuan			
Kol.total	177,50 ± 32,32	179,80 ± 31,86	0,676
Trigliserida	77,80 ± 30,03	79,90 ± 26,71	0,381
HDL	55,00 ± 10,36	55,30 ± 9,25	0,442
LDL	99,20 ± 26,28	103,00 ± 31,44	0,542
Ratio HDL/LDL	1,91 ± 0,67	1,93 ± 0,67	0,743

Tabel 5. Perbandingan nilai rata-rata BUN, kreatinin dan asam urat relawan sehat pada hari ke-0 dan hari ke-14 setelah pemberian kapsul ekstrak akar pasak bumi

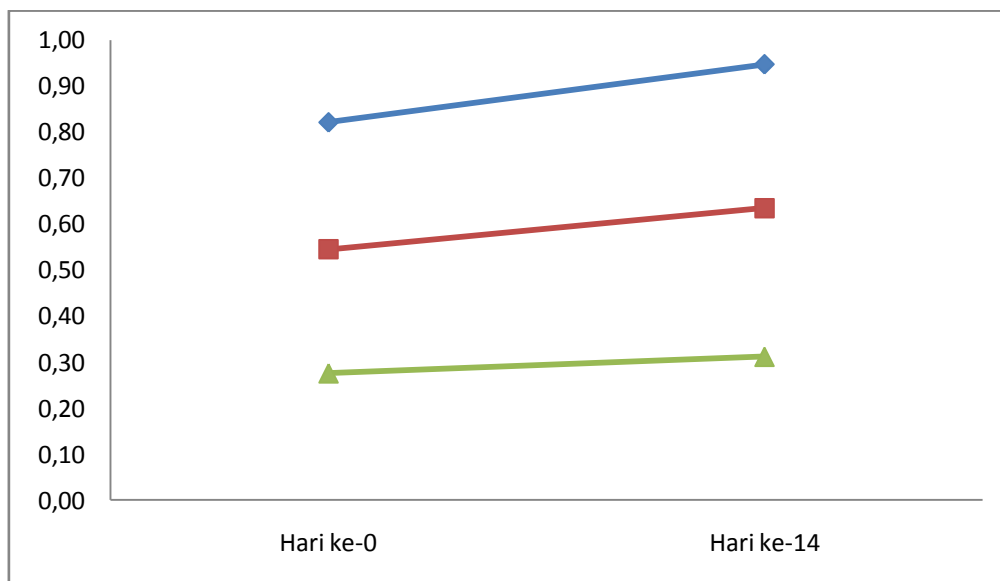
Parameter	Hari ke-0	Hari ke-14	Sig.
Laki-laki			
BUN (mg/dL)	9,94 ± 2,08	9,69 ± 2,34	0,560
Kreatinin (mg/dL)	0,91 ± 0,12	0,89 ± 0,13	0,577
Asam urat (mg/dL)	6,16 ± 1,72	6,17 ± 1,86	0,966
Perempuan			
BUN (mg/dL)	7,63 ± 2,97	7,63 ± 1,85	0,998
Kreatinin (mg/dL)	0,67 ± 0,08	0,68 ± 0,06	0,723
Asam urat (mg/dL)	4,45 ± 1,39	4,48 ± 0,63	0,200



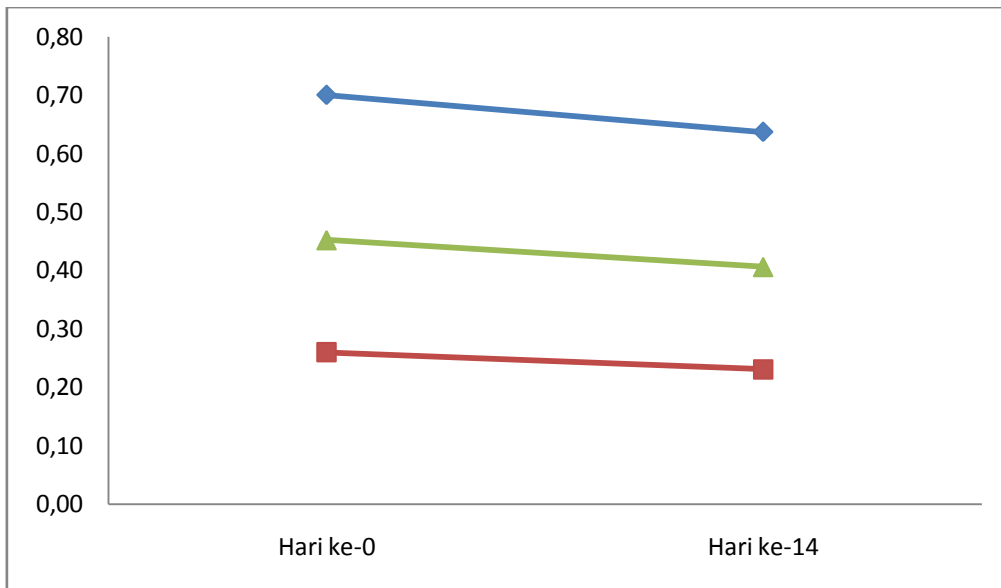
Gambar 1. Grafik Perbedaan nilai rata-rata parameter SGOT/SGPT dan total protein relawan sehat laki-laki pada hari ke-0 dan hari ke-14 setelah mengonsumsi kapsul ekstrak akar pasak bumi



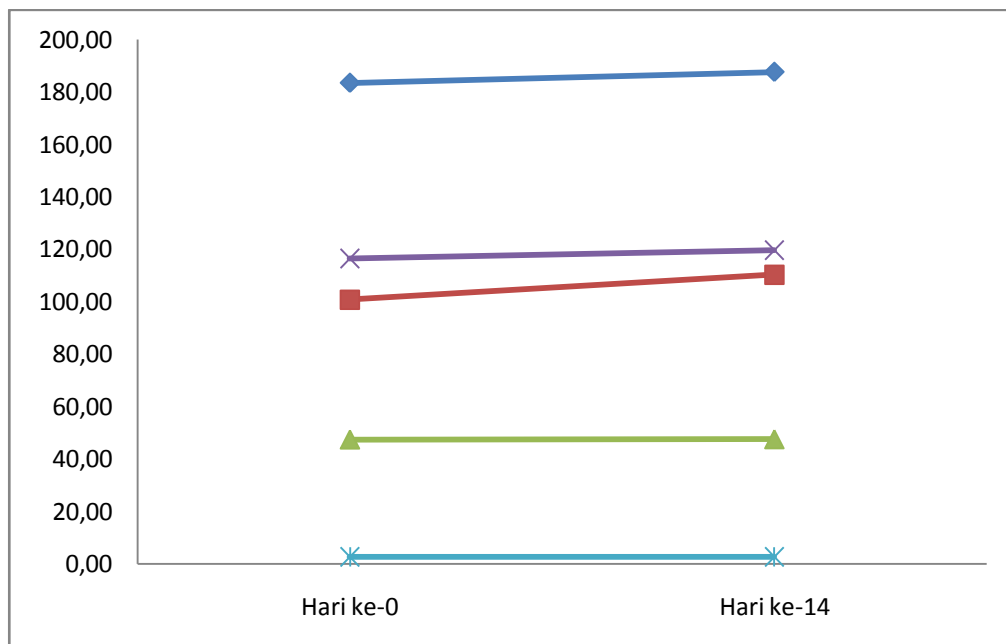
Gambar 2. Grafik Perbedaan nilai rata-rata parameter SGOT/SGPT dan total protein relawan sehat perempuan pada hari ke-0 dan hari ke-14 setelah mengkonsumsi kapsul ekstrak akar pasak bumi



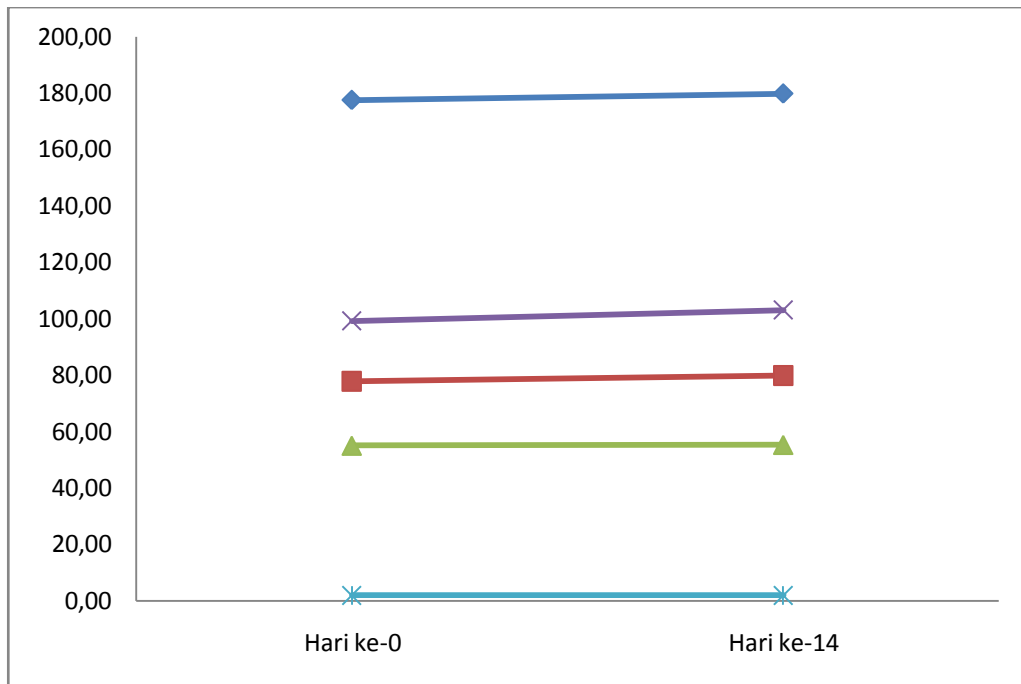
Gambar 3. Grafik Perbedaan nilai rata-rata parameter bilirubin (total, direk & indirek) relawan sehat laki-laki pada hari ke-0 dan hari ke-14 setelah mengkonsumsi kapsul ekstrak akar pasak bumi



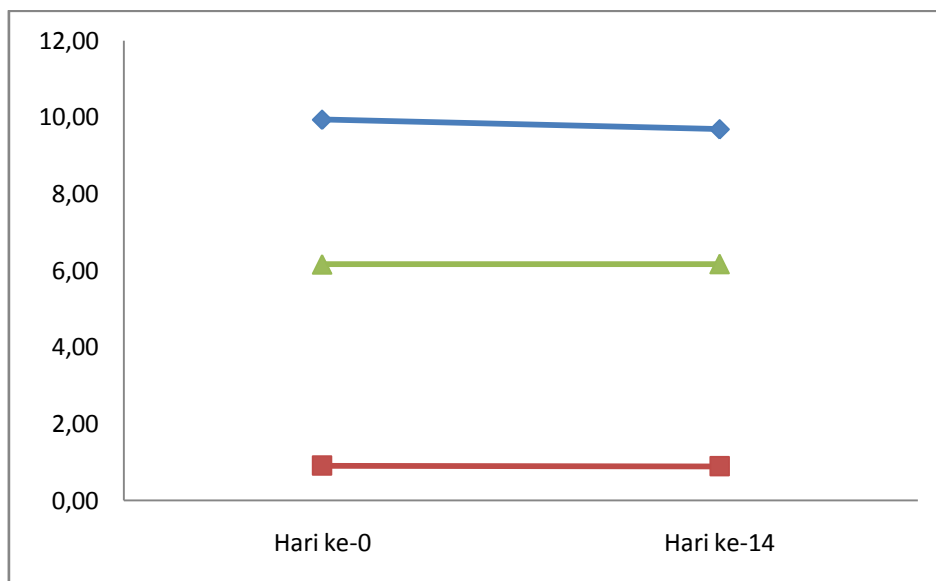
Gambar 4. Grafik Perbedaan nilai rata-rata parameter bilirubin (total, direk & indirek) relawan sehat perempuan pada hari ke-0 dan hari ke-14 setelah mengkonsumsi kapsul ekstrak akar pasak bumi



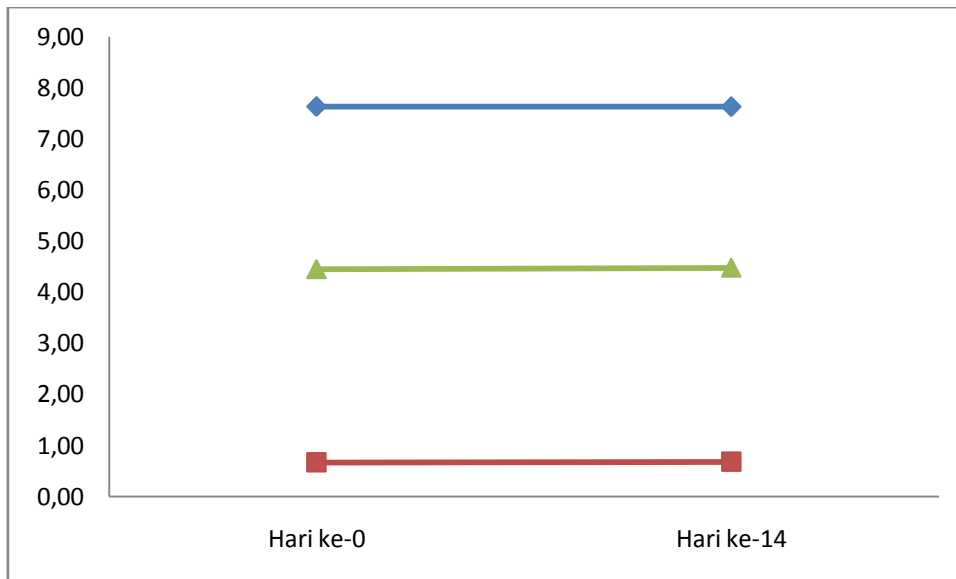
Gambar 5. Perbedaan profil lemak relawan sehat laki-laki hari ke-0 dan hari ke-14 setelah pemberian kapsul ekstrak akr pasak bumi



Gambar 6. Perbedaan profil lemak relawan sehat perempuan hari ke-0 dan hari ke-14 setelah pemberian kapsul ekstrak akr pasak bumi



Gambar 7. Grafik Perbedaan nilai rata-rata BUN, kreatinin dan asam urat realwan sehat laki-laki pada hari ke-0 dan hari ke-14 setelah mengkonsumsi kapsul ekstrak akar pasak bumi



Gambar 8. Grafik Perbedaan nilai rata-rata BUN, kreatinin dan asam urat realwan sehat perempuan pada hari ke-0 dan hari ke-14 setelah mengkonsumsi kapsul ekstrak akar pasak bumi



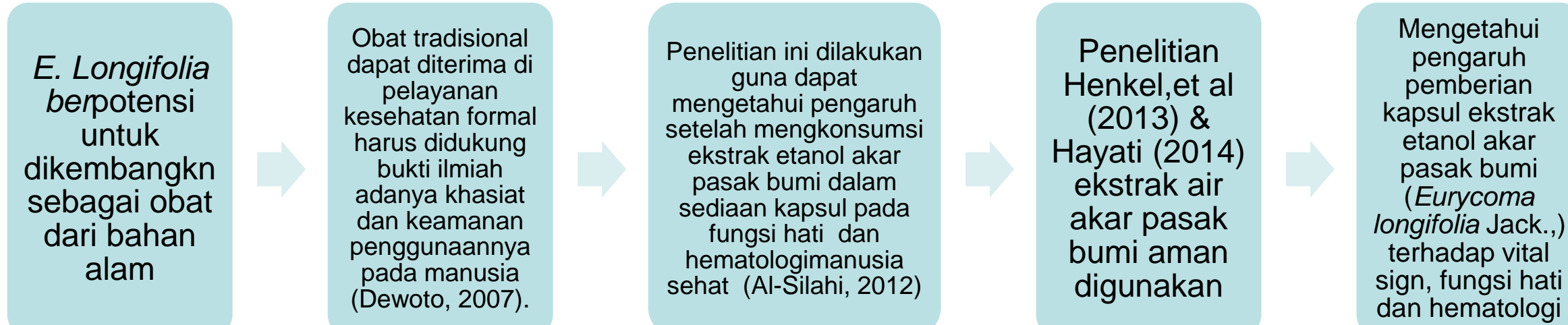
EFEK KAPSUL EKSTRAK ETANOL AKAR PASAK BUMI (*Eurycoma longifolia*, Jack) TERHADAP VITAL SIGN, FUNGSI HATI DAN HEMATOLOGI SUKARELAWAN SEHAT



Laela Hayu Nurani¹, Abdul Rohman², Sitarina Widayarni³

¹)NIDN: 0520097501, ²)NIDN: 0020017705, ³)NIDN: 0016096602

PENDAHULUAN



METODE

20 sukarelawan sehat yang memenuhi kriteria inklusi.

Sukarelawan sehat diberi kapsul ekstrak etanol akar pasak bumi (KEAPB) dengan dosis 300 mg/hari (Kanokkangsadal *et al.*, 2016).



Sukarelawan sehat mengonsumsi kapsul ekstrak etanol akar pasak bumi selama 14 hari (Kanokkangsadal *et al.*, 2016)

Pemeriksaan dilakukan pada:
hari ke-0 (sebelum mengonsumsi KEAPB),
hari ke-14 (setelah mengonsumsi KEAPB),
hari ke-42 (tidak lagi mengonsumsi KEAPB setelah 14 hari / monitoring)
(Kanokkangsadal *et al.*, 2016)

Pemeriksaan yang dilakukan meliputi:
• Pemeriksaan fungsi hati dan hematologi di Diagnostic Center Parahita Yogyakarta
• Pemeriksaan *vital sign* di Praktek Dokter Apotek UAD Yogyakarta



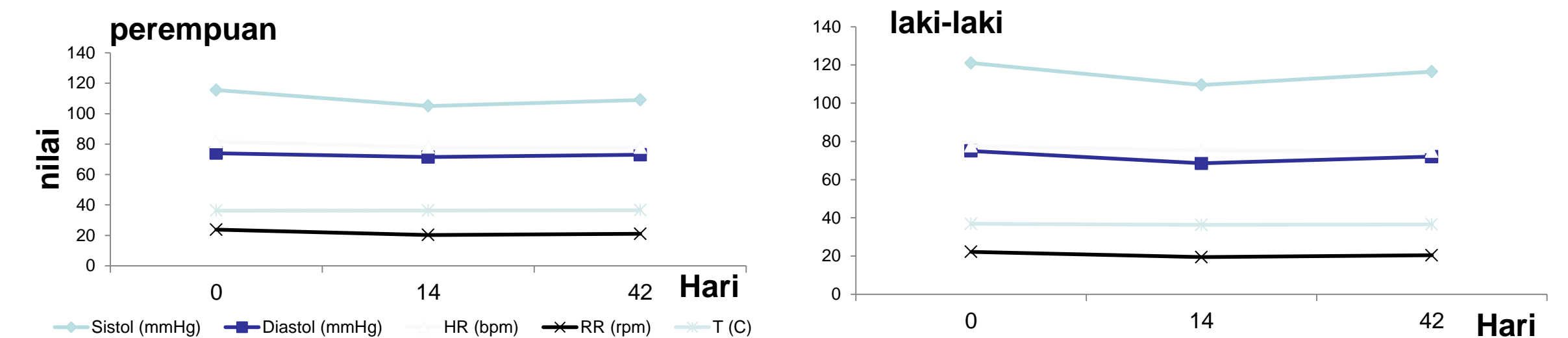
Analisis data menggunakan uji statistik *repeated anova* dan *friedman* dengan taraf kepercayaan 95%.

DAFTAR PUSTAKA

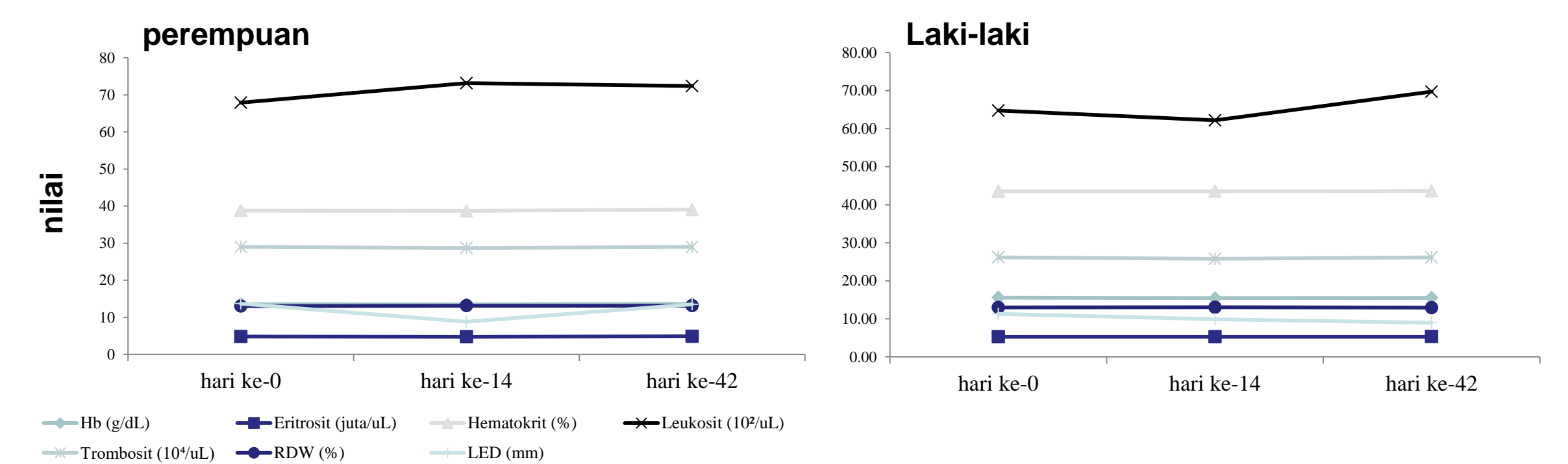
- Al-Salahi OSA., Zaki AH., Chan KL., Shah AM., Abdullah WZ & Yusoff NM. 2012. The *in-vivo* effects of partially purified sub-fraction (TAF2) of the crude methanolic extract of *Eurycoma longifolia* roots on the haematological, biochemical and histology parameters, *Int J Pharm Sci Res.* 3 (9). 3101-3105.
- Hayati, Farida. 2013. Uji Pralini dan Uji Klinik Fase I Ekstrak Air Akar Pasak Bumi (*Eurycoma longifolia*, Jack) Terstandar sebagai Afrodisiaka. *Disertasi.* Fakultas Kedokteran Universitas Gadjah Mada. Yogyakarta.
- Henkel., Rafi R., 2013. Tingkat Ali as a Potential Herbal Supplement for Physically Active Male and Female Seniors-A Pilot Study. *Phytotherapy Research.*
- Kanokkangsadal, Puritat. 2016. *The Clinical Safety of Alcoholic Extract Sahastara Remedy of Extract Capsule in Healthy Volunteers.* Department of Applied Thai Traditional Medicine, Faculty of Medicine, Thammasat University (Online). Diakses tanggal: 24 Juli 2016 [https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT02568059].

HASIL PENELITIAN

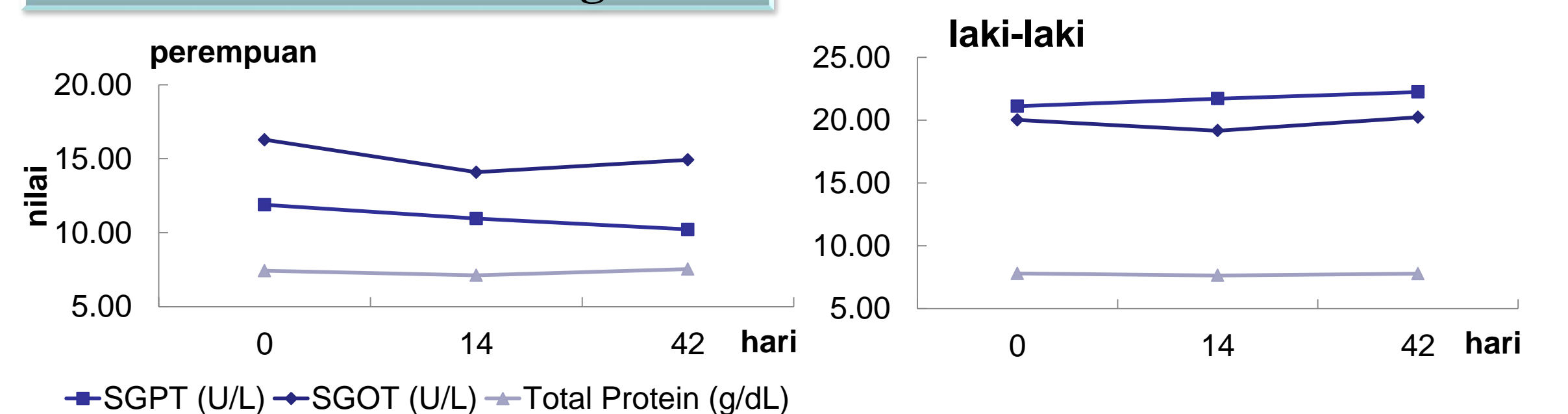
• Hasil Pemeriksaan *Vital Sign*



• Hasil Pemeriksaan Hematologi



• Hasil Pemeriksaan Fungsi Hati



Hasil penelitian ini secara menyeluruh menunjukkan bahwa pemberian kapsul ekstrak etanol akar pasak bumi tidak mempengaruhi sebagian besar nilai pemeriksaan ($p > 0,05$). Nilai pemeriksaan yang menunjukkan adanya perubahan ($p < 0,05$) dapat dikatakan tidak mempengaruhi hasil pemeriksaan karena perubahan nilai pengukuran yang masih dalam range nilai parameter yang normal.

KESIMPULAN

Kapsul ekstrak etanol akar pasak bumi dosis 300 mg/kg BB selama 14 hari secara berturut-turut relatif aman terhadap fungsi hati maupun hematologi sukarelawan sehat.



e-mail: laelafarmasi@yahoo.com
Program Pascasarjana Farmasi
Universitas Ahmad Dahlan
(Jl. Dr. Soepomo, Warungboto, Yogyakarta)