

Biofarmasi

Journal of Natural Products Biochemistry

**VOLUME 1
NOMOR 2
AGUSTUS 2003
ISSN: 1693-2242**

PENERBIT:

Jurusan Biologi FMIPA Universitas Sebelas Maret Surakarta

ALAMAT PENERBIT/REDAKSI:

Jl. Ir. Sutami 36A Surakarta 57126.
Tel./Faks. +6271-663375
Tel. +6271-646994 Psw. 387,
Faks. +6271-646655.
E-mail: biology@mipa.uns.ac.id.
Online: www.biology.uns.ac.id.

TERBIT PERTAMA TAHUN:

2003

ISSN:

1693-2242

PEMIMPIN REDAKSI/PENANGGUNGJAWAB:

S u t a r n o

SEKRETARIS REDAKSI:

Ahmad Dwi Setyawan
Purin Candra Purnama

PENYUNTING PELAKSANA:

Djoko Santoso
Ratna Setyaningsih
Solichatun
Suratman
Surya Dewi Marlina
Tetri Widiyani
Venty Suryanti

PENYUNTING AHLI:

Prof. Dr. Dayar Arbain – Universitas Andalas Padang
Prof. Dr. dr. Santosa, M.S. – Universitas Sebelas Maret Surakarta
Prof. Dr. Syamsul Arifin Achmad – Institut Teknologi Bandung
Prof. Drs. Suranto, M.Sc., Ph.D. – Universitas Sebelas Maret Surakarta
Dr. Chaerul, Apt. – Pusat Penelitian Biologi LIPI Bogor
Dr. C.J. Sugiharjo, Apt. – Universitas Gadjah Mada Yogyakarta
Dr. Ir. Supriyadi, M.Sc. – Balai Penelitian Tanaman Obat dan Rempah Bogor

Biofarmasi, Journal of Natural Products Biochemistry

mempublikasikan tulisan ilmiah, baik hasil penelitian asli maupun telaah pustaka (*review*) dalam lingkup ilmu-ilmu farmasi dan biologi, dengan tema khusus biokimia bahan alam (*natural product biochemistry*). Setiap naskah yang dikirimkan akan ditelaah oleh redaktur pelaksana, redaktur ahli, dan redaktur tamu yang diundang secara khusus sesuai bidangnya. Dalam rangka menyongong pasar bebas, penulis sangat dianjurkan menuliskan karyanya dalam Bahasa Inggris, meskipun tulisan dalam Bahasa Indonesia yang baik dan benar tetap sangat dihargai. Hingga nomor ini, jurnal dikirimkan kepada institusi-institusi yang meminta tanpa biaya pengganti, sebagai bentuk pertukaran pustaka demi mendorong penelitian, pengembangan, dan pemanfaatan bahan alam. Jurnal ini terbit dua kali setahun, setiap bulan Pebruari dan Agustus.

Pertumbuhan Kalus dan Produksi Antrakuinon Mengkudu (*Morinda citrifolia* L.) pada Media Murashige-Skoog (MS) dengan Penambahan Ion Ca^{2+} dan Cu^{2+}

Callus growth and anthraquinones production of Indian mulberry (*Morinda citrifolia* L.) in Murashige-Skoog's medium (MS) supplemented with Ca^{2+} and Cu^{2+}

IKA ARININGSIH, SOLICHA TUN*, ENDANG ANGGARWULAN

Jurusan Biologi FMIPA UNS Surakarta 57126.

* Korespondensi: olich@mipa.uns.ac.id. Tel./Faks. +6271-663375.

Diterima: 17 Agustus 2002. Disetujui: 28 Februari 2003.

Abstract. The objectives of the research were to study the effect of Ca^{2+} and Cu^{2+} ions in Murashige-Skoog's medium on callus growth and anthraquinones production from *Morinda citrifolia* callus. The outline of the research was that the callus growth and secondary metabolite production from plant's body could be triggered by the occurrence of elicitor that is added to culture's medium, as biotic or abiotic elicitors. The addition of Ca^{2+} and Cu^{2+} ions in culture's medium as abiotic elicitor would cause the occurrence of metal's ion competition and interaction toward cells that being cultured, furthermore, it would influence ion transport from or to cell cytoplasm. Finally, cytoplasm pH would be influenced, so that both of callus growth and secondary metabolite from the cell that being cultured will also affected. In this research, in vitro callus culture method to obtain callus from explant (*Morinda citrifolia* leaf) and to induced anthraquinone production was used. In vitro culture used in this research consisted of 3 stages. First stage was the basal medium for sterilant object, second stage was the callus initiation medium to induce callus, and third stage was the treatment medium to induce anthraquinone production from callus. The research used factorial completely randomized design with 2 factors (Ca^{2+} ions: 0 mg l^{-1} , 440 mg l^{-1} , 880 mg l^{-1} and Cu^{2+} ions 0 mg l^{-1} , 2,5 mg l^{-1} , 5 mg l^{-1}), with 3 replicates. Data collected were qualitative data (explant sterilization and callus morphology) and quantitative data (callus growth rate, callus dry weight, and anthraquinone content). The data were analyzed using ANOVA, followed by DMRT with 5% confidence level. The result of the research indicated that the treatment with addition of Ca^{2+} and Cu^{2+} ions on MS medium did not have any significant effect on callus growth and anthraquinone production.

Key words: callus growth, anthraquinone, *Morinda citrifolia* L., Ca^{2+} , Cu^{2+} , callus culture

PENDAHULUAN

Industri obat-obatan tradisional berkembang pesat pada beberapa tahun terakhir ini, sejak konsep *back to nature* dalam dunia pengobatan dijadikan sebagai alternatif dengan memanfaatkan tanaman obat-obatan secara langsung. Penelitian terhadap tanaman obat-obatan tidak hanya pada aspek biologi dan kimiawinya saja, tetapi juga pada aspek farmakologis dan ilmu tanamannya sehingga komponen aktif dari tanaman obat tersebut dapat diketahui secara pasti (Subowo, 1996). Permasalahan umum yang muncul berkaitan dengan hal tersebut menurut Sumaryono (1996) adalah tentang bahan baku tanamannya baik dalam hal pembudidayaan maupun dari sudut pandang biosintesis metabolit sekunder dalam tanaman sebagai konstituen aktif yang berkhasiat obat secara kualitas maupun kuantitas.

Morinda citrifolia L. (mengkudu) dari familia Rubiaceae merupakan salah satu spesies tanaman obat yang telah digunakan untuk menyembuhkan beberapa macam penyakit, seperti antibakteri, analgesik, anti-kongestif, sedatif, dan aktivitas

insektisida serta dapat membantu menyembuhkan peradangan amandel, meningkatkan daya tahan tubuh, menormalkan tekanan darah, dan mengatasi siklus energi tubuh (Abdullah *et al.*, 1998; Paimin, 2001). Aspek penting tanaman mengkudu yang digunakan dalam pengobatan adalah kandungan metabolit sekundernya yang berupa glikosida antrakuinon dalam bentuk "morindon" sebagai obat pencahar (Thomas, 1989; Robinson, 1991; Harborne, 1996).

Produksi metabolit sekunder melalui kultur in vitro merupakan pilihan yang mempunyai harapan dibandingkan dengan produksi tanaman utuh (Kurz dan Constabel, 1991). Hal ini disebabkan teknik kultur jaringan memiliki banyak keuntungan antara lain tidak tergantung pada faktor lingkungan, sistem produksinya dapat diatur sehingga kualitas dan produksinya lebih konsisten untuk memenuhi kebutuhan pasar serta dapat mengurangi penggunaan lahan (Wiendi dkk. dalam Sitinjak, 2000). Meskipun teknik kultur jaringan mempunyai keuntungan yang besar, namun masih mempunyai kekurangan yaitu produksi metabolit sekunder yang masih rendah pada beberapa kultur tumbuhan.

Untuk mengatasinya perlu dilakukan teknik elisitasi (Buitalaar dan Tramper dalam Sitinjak, 2000).

Elisitasi menurut Barz *et al.* dalam Sitinjak (2000) merupakan teknik untuk merangsang pembentukan fitoaleksin dan meningkatkan produksi metabolit sekunder yang terakumulasi akibat cekaman. Substansi yang dapat dijadikan sebagai elisitor dapat berupa zat pengatur tumbuh (ZPT) dan komponen abiotik seperti cahaya, temperatur, prekursor, dan kondisi nutrisi pada medium.

Dalam penelitian ini, digunakan tanaman *M. citrifolia* untuk produksi antrakuinon melalui kultur kalus dengan menggunakan elisitor abiotik, yaitu penambahan ion Ca^{2+} yang dikombinasikan dengan Cu^{2+} pada konsentrasi tertentu di media kultur. Media yang digunakan adalah media Murashige-Skoog (MS), dengan ZPT berupa 0,5 mg/l NAA dan 0,5 mg/l kinetin pada temperatur $27 \pm 3^\circ\text{C}$, hal ini mengacu pada hasil penelitian sebelumnya pada *Morinda elliptica* oleh Abdullah *et al.* (1998) yang telah terbukti meningkatkan produksi antrakuinon.

BAHAN DAN METODE

Penelitian ini dilaksanakan selama 8 bulan, yaitu mulai dari bulan September 2001 sampai bulan April

2002, bertempat di Sub-Laboratorium Biologi, Laboratorium Pusat MIPA, Universitas Sebelas Maret Surakarta.

Bahan-bahan yang digunakan meliputi bahan tanaman yang berupa daun *M. citrifolia* muda dan bahan kimia yang meliputi akuades, deterjen cair, alkohol absolut, desinfektan (mengandung natrium hipoklorit 5,25%), komposisi media dasar Murashige-Skoog (MS), sukrosa, ZPT (NAA dan kinetin), $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, Agar, HCl 1 N, NaOH 1 N, dan diklorometan. Adapun alat-alat yang digunakan meliputi botol kultur, laminar air flow, cawan petri, hot plate, gelas ukur, magnetik stirer, vortex, erlenmeyer, keranjang autoklaf, oven, skalpel, gelas beker, pinset, bunsen burner, gunting, neraca analitik, aluminium foil, pH meter, tissue gulung, kertas label, pipet volumetrik, pipet tetes, autoklaf, mortal, corong kaca, gelas piala, tabung reaksi, rak tabung reaksi, rak media, kuvet, dan spektrofotometer UV-VIS Shimadzu.

Penelitian dilakukan dengan Rancangan Acak Lengkap Faktorial yang terdiri atas dua faktor. Faktor pertama yaitu penambahan Ca^{2+} dengan tiga taraf yang meliputi C_0 (konsentrasi 0 mg/l), C_1 (konsentrasi 440 mg/l), dan C_2 (konsentrasi 880 mg/l). Sedangkan faktor kedua yaitu penambahan Cu^{2+} dengan tiga taraf yang meliputi E_0 (konsentrasi 0 mg/l), E_1 (konsentrasi 2,5 mg/l), dan E_2 (konsentrasi 5 mg/l). Sehingga menghasilkan 9 kombinasi perlakuan, masing-masing dengan tiga ulangan.

Pelaksanaan penelitian diawali oleh sterilisasi peralatan dengan autoklaf pada suhu 121°C dan tekanan 1,5 atm selama 1 jam. Media dasar menggunakan media Murashige-Skoog (MS). Untuk media inisiasi kalus, media dengan komposisi seperti pada media dasar ditambah NAA 0,5 mg/l, kinetin 0,5 mg/l, dan sukrosa 2,1 g, sedangkan untuk media perlakuan, seperti pada media inisiasi kalus ditambah dengan Ca^{2+} 0 mg/l, 440 mg/l, 880 mg/l, dan Cu^{2+} 0 mg/l, 2,5 mg/l, 5 mg/l.

Sterilisasi eksplan dilakukan dengan membersihkan daun *M. citrifolia* dengan deterjen, lalu membilasnya dibawah air mengalir, memotongnya dengan ukuran 3x3 cm, dan merendamnya dalam larutan steril alkohol 45% selama 5 menit, akuades steril selama 5 menit, clorox (mengandung NaClO 5,25%) 45% selama 3 menit, akuades steril selama 5 menit serta dibilas dalam akuades steril 3 kali.

Tabel 1. Uji sterilan pada eksplan daun *M. citrifolia*.

No	Sterilan	Tingkat Kontaminasi	Kesegaran Jaringan	Jenis Kontaminan	
				Jamur	Bakteri
1	Alkohol 70%-10 menit Clorox 70%-05 menit	75%	+/-	++	++
2	Alkohol 70%-10 menit Clorox 50%-05 menit	75%	+	+	++
3	Alkohol 50%-05 menit Clorox 45%-05 menit	50%	++	+	++
4	Alkohol 45%-05 menit Clorox 45%-03 menit	50%	+++	+	+

Keterangan: Kesegaran Jaringan : (-) Tidak Segar, (+) Kurang Segar, (++) Cukup Segar, (+++) Segar; Banyaknya Kontaminan : (+) Sedikit, (++) Sedang

Tabel 2. Warna dan tekstur kalus *M. citrifolia* pada media perlakuan.

No	Perlakuan	Warna		Tekstur	
		Awal	Akhir	Awal	Akhir
1	C_0E_0	1++	1+++2,4	Kompak berair	Kompak berair
2	C_0E_1	1++1+	1++++1++++2	Kompak berair	Kompak berair
3	C_0E_2	1++1+	1++++1+++2,3,4	Kompak berair	Kompak berair
4	C_1E_0	1++1+	1++++1+++2,4	Kompak berair	Kompak berair
5	C_1E_1	1++1+	1++++1+++2,3,4	Kompak berair	Kompak berair
6	C_1E_2	1++	1++++1+++2	Kompak berair	Kompak berair
7	C_2E_0	1+1++	1++++1++++	Kompak berair	Kompak berair
8	C_2E_1	1++1+	1++++1++++2,3,4	Kompak berair	Kompak berair
9	C_2E_2	1++	1++++1++++2	Kompak berair	Kompak berair

Keterangan:

Perlakuan: C_0E_0 : Ca^{2+} 0 mg l^{-1} dan Cu^{2+} 0 mg l^{-1} , C_0E_1 : Ca^{2+} 0 mg l^{-1} dan Cu^{2+} 2,5 mg l^{-1} , C_0E_2 : Ca^{2+} 0 mg l^{-1} dan Cu^{2+} 5 mg l^{-1} , C_1E_0 : Ca^{2+} 440 mg l^{-1} dan Cu^{2+} 0 mg l^{-1} , C_1E_1 : Ca^{2+} 440 mg l^{-1} dan Cu^{2+} 2,5 mg l^{-1} , C_1E_2 : Ca^{2+} 440 mg l^{-1} dan Cu^{2+} 2,5 mg l^{-1} , C_2E_0 : Ca^{2+} 880 mg l^{-1} dan Cu^{2+} 0 mg l^{-1} , C_2E_1 : Ca^{2+} 880 mg l^{-1} dan Cu^{2+} 2,5 mg l^{-1} , C_2E_2 : Ca^{2+} 880 mg l^{-1} dan Cu^{2+} 5 mg l^{-1} . Intensitas warna: 1+: coklat muda, 1++: coklat sedang, 1+++: coklat tua, 1++++: coklat sangat tua, 2: coklat kehitaman, 3: hijau kekuningan, 4: kuning bening.

Eksplan steril kemudian di subkultur pada media inisiasi kalus dan setelah kalus terbentuk dan berusia 4 bulan, kalus di subkultur pada media perlakuan dengan ukuran 1X2 cm². Pemeliharaan dilakukan dengan menyemprot botol-botol kultur dengan alkohol 70% satu kali sehari, diberi penerangan lampu neon 20 watt, dan suhu ruang dijaga $\pm$ 25°C. Kalus diamati pertumbuhannya setiap hari dan pada hari terakhir sebelum pemanenan diamati warna kalus, tekstur kalus, dan berat basah kalus awal. Pemanenan dilakukan pada umur kalus 54 hari kalus pada media perlakuan dan dilakukan pengukuran berat basah kalus akhir, berat kering kalus, dan analisis kandungan antrakuinon.

Parameter yang diamati meliputi berat basah kalus awal dan berat basah kalus akhir untuk pengukuran laju pertumbuhan kalus, berat kering kalus dan analisis antrakuinon secara spektrofotometer dengan cara mengekstrak $0,020 \pm 0,001$ g serbuk sel-sel kalus kering dalam tabung reaksi dengan menambahkan 2 ml diklorometan beberapa kali kemudian ekstrak diukur absorbansinya pada panjang gelombang 420 nm dengan menggunakan alizarin sebagai larutan pembanding (Zenk *et al.* dalam Abdullah *et al.*, 1998). Kontaminan pada uji sterilitas dilakukan secara langsung dengan melihat ciri-ciri umum koloni mikro-organismenya (jamur dan bakteri) (Kyte dan Kleyn, 1996; Tim mikrobiologi, 1999).

Analisis data dilakukan dengan menggunakan analisis varian (ANOVA) taraf 5% dan apabila terdapat beda nyata dilanjutkan dengan uji Duncan (DMRT) taraf 5%.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Sterilisasi eksplan

Dari berbagai metode sterilisasi eksplan yang dilakukan (lihat Tabel 1), diperoleh sterilisasi eksplan terbaik dengan menggunakan alkohol 45% selama 5 menit dan clorox (mengandung 5,25% NaClO) 45% selama 3 menit. Metode sterilisasi terbaik ditandai dengan rendahnya persentase kontaminan dan tingginya tingkat kesegaran jaringan. Metode ini kemudian digunakan pada perlakuan selanjutnya.

Morfologi kalus

Morfologi kalus pada media inisiasi kalus

Eksplan yang tidak terkontaminasi dan segar ditanam pada media inisiasi kalus yang mengandung auksin (NAA 0,5 mg/l) dan sitokinin (kinetin 0,5 mg/l) dalam konsentrasi seimbang. Kombinasi zat pengatur tumbuh (ZPT) yang demikian ini dimaksudkan untuk merangsang pembesaran, proliferasi sel, dan pertumbuhan kalus dari eksplan yang ditanam. Kalus merupakan kumpulan sel-sel amorf yang terjadi dari sel-sel jaringan yang membelah secara terus-menerus (Sudarto, 1988). Kalus ini akan terbentuk pada media yang mengandung konsentrasi auksin dan sitokinin dalam kondisi seimbang (Abidin, 1994).

Eksplan pada media inisiasi kalus mengalami pertambahan volume karena terjadinya pembesaran ukuran sel-selnya. Akibatnya, ukuran eksplan menjadi dua kali ukuran semula. Setelah eksplan berusia dua minggu dari saat tanam, muncul kalus dari daerah-daerah luka terutama pada tepi potongan eksplan. Hal ini ditandai dengan munculnya bercak-bercak berwarna keputih-putihan yang semakin lama berubah warna menjadi kuning kecoklatan.

Morfologi kalus pada media perlakuan

Kondisi kalus yang disubkultur pada media perlakuan mempunyai tekstur yang kompak berair dengan warna kecoklatan. Semakin lama kalus ditanam pada media perlakuan, warnanya semakin coklat tua bahkan cenderung coklat kehitaman dan muncul kalus muda yang berwarna kuning bening (*yellowish*) dengan tekstur kompak.

Tekstur dan warna kalus *M. citrifolia* pada media perlakuan di akhir pengamatan (hari ke 54) dapat dilihat pada tabel 2. Dari tabel tersebut dapat dilihat bahwa tekstur kalus yang diperoleh adalah kompak dengan permukaan bawah berair. Susunan tekstur kalus ini menurut Street (1972) merupakan susunan sel-sel kalus yang rapat, padat, sulit dipisahkan, mempunyai proporsi vakuola yang lebih besar, dan mempunyai dinding sel polisakarida yang besar. Pada permukaan bawah eksplan terlihat kondisi jaringan yang berair. Kondisi ini disebabkan adanya bagian yang langsung bersentuhan dengan media dan berperan sebagai area penyerapan nutrisi bagi eksplan.

Perubahan warna kalus secara jelas dapat dilihat setelah eksplan berusia 54 hari di media perlakuan (Tabel 2). Perubahan warna yang terjadi pada kalus dari coklat muda menjadi coklat tua dan coklat kehitaman disebabkan oleh usia kalus yang dikulturkan semakin tua. Abdullah *et al.* (1998) menyatakan bahwa sel-sel muda yang sehat akan menunjukkan warna kuning bening, namun akan berubah menjadi kecoklatan seiring dengan pertumbuhan kalus yang semakin tua. Kondisi warna kalus yang bervariasi menurut Hendaryono dan Wijayani (1994) bisa disebabkan oleh adanya pigmentasi, pengaruh cahaya, dan bagian tanaman yang dijadikan sebagai sumber eksplan. Eksplan yang cenderung berwarna kecoklatan mungkin disebabkan oleh kondisi eksplan yang secara internal mempunyai kandungan fenol tinggi sehingga oleh pengaruh cahaya akan menyebabkan teroksidasinya fenol menjadi kuinon fenolik (Hendaryono, 2000).

Antrakuinon merupakan salah satu produk metabolisme sekunder yang dihasilkan oleh eksplan dan termasuk golongan kuinon fenolik yang dalam biosintesisnya berasal dari turunan fenol. Oleh sebab itu, maka dalam proses seleksi eksplan yang akan dikulturkan pada media perlakuan biasanya didasarkan pada warna dari eksplan yang akan dikulturkan. Menurut Indrayanto (1987) terdapat korelasi antara warna kultur dengan kandungan metabolit sekunder seperti antosianin dan antrakuinon.

Pada perlakuan dengan penambahan ion Cu^{2+} dalam media terlihat bahwa semakin banyak ion Cu^{2+} yang ditambahkan, maka warna kalus menjadi lebih tua. Kondisi ini disebabkan oleh akumulasi fenol yang cukup besar pada kalus sebagai akibat dari absorpsi ion Cu^{2+} yang lebih dari cukup. Hal ini berkaitan dengan peran Cu^{2+} sebagai kofaktor untuk enzim polifenol oksidase yang akan memicu perubahan fenol menjadi kuinon (Prawiranata et al., 1995). Dengan demikian, warna yang lebih tua pada kalus menunjukkan adanya aktivitas biosintesis metabolit sekunder yang lebih besar.

Laju pertumbuhan kalus

Dari hasil analisis sidik ragam diketahui bahwa semua faktor utama baik penambahan ion Ca^{2+} maupun Cu^{2+} dalam berbagai konsentrasi dan interaksi perlakuan antara kedua ion tersebut dalam berbagai konsentrasi tidak berpengaruh nyata terhadap laju pertumbuhan kalus. Hal ini diduga disebabkan oleh adanya substitusi dalam absorpsi ion-ion yang mempunyai fungsi sama, sehingga laju pertumbuhan kalus tetap terjaga kestabilannya. Selain itu juga karena lamanya waktu di media perlakuan yang pendek menyebabkan stres ion metal kurang berpengaruh terhadap sel-sel kalus yang dikulturkan. Laju pertumbuhan kalus *M. citrifolia* pada media perlakuan dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Laju pertumbuhan kalus *M. citrifolia* pada media perlakuan (mg hr⁻¹).

Penambahan Ca^{2+}	Penambahan Cu^{2+}			Rerata C
	E ₀	E ₁	E ₂	
C ₀	4,470 ^a	0,923 ^a	1,873 ^a	2,422 ^a
C ₁	2,327 ^a	0,630 ^a	2,670 ^a	1,876 ^a
C ₂	1,857 ^a	2,073 ^a	1,813 ^a	1,914 ^a
Rerata E	2,884 ^a	1,209 ^a	2,119 ^a	

Laju pertumbuhan kalus, baik pada media inisiasi maupun pada media perlakuan, sangat lambat. Lambatnya pertumbuhan kalus pada media inisiasi kalus diduga disebabkan oleh kondisi internal dari eksplan itu sendiri baik secara morfologi maupun anatomi. Hal ini dapat dilihat dari kondisi permukaan helaian daun yang dijadikan sebagai sumber eksplan yang terlindungi oleh lapisan kutikula yang cukup tebal (khususnya pada permukaan atas) sehingga menghambat absorpsi zat hara dari media. Adapun secara anatomis dapat diketahui dari struktur anatomi dari daun familia Rubiaceae yang mempunyai saluran pembuluh kecil hingga sedang dan mempunyai parenkim dengan serat-serat bersekat (Bhattacharya dan Johri, 1998). Kondisi demikian dapat menghambat aliran ion antar sel-selnya.

Lambatnya laju pertumbuhan kalus pada media perlakuan diduga disebabkan oleh adanya hambatan pertumbuhan pada tahapan-tahapan siklus sel untuk membelah dan memperbanyak diri. Salah satunya dapat dilihat pada tahap interfase yang kemungkinan berlangsung lama pada G₁ (tahap sel anakan yang terbentuk mulai tumbuh

menjadi sel dewasa untuk tahap persiapan berikutnya) (Rekso-atmodjo, 1993). Selain itu juga dapat dilihat pada anafase yang menurut Reksoatmodjo (1993) berkaitan dengan keberadaan ion Ca^{2+} yang berperan sebagai pemrakarsa pada proses anafase. Namun demikian, adanya kompetisi yang mungkin terjadi dalam penyerapan nutrisi oleh sel-sel kalus menyebabkan kadar ion Ca^{2+} yang terkandung dalam sitosol cenderung seimbang dalam tiap perlakuan sehingga pembelahan sel-sel kalus memiliki laju yang sama.

Berat kering kalus

Berat kering kalus umur 54 hari pada media perlakuan dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 4. Berat kering kalus *M. citrifolia* (mg).

Penambahan Ca^{2+}	Penambahan Cu^{2+}			Rerata C
	E ₀	E ₁	E ₂	
C ₀	54,8 ^a	66,7 ^a	63,5 ^a	62,3 ^a
C ₁	56,9 ^a	67,2 ^a	52,0 ^a	58,7 ^a
C ₂	51,6 ^a	52,6 ^a	50,3 ^a	51,5 ^a
Rerata E	54,4 ^a	62,2 ^a	55,9 ^a	

Dari hasil analisis sidik ragam diketahui bahwa semua faktor utama baik penambahan ion Ca^{2+} maupun Cu^{2+} dalam berbagai konsentrasi dan interaksi perlakuan antara kedua ion tersebut dalam berbagai konsentrasi tidak berpengaruh nyata terhadap berat kering kalus. Hal ini diduga disebabkan oleh adanya kombinasi konsentrasi penambahan ion Ca^{2+} dan Cu^{2+} pada media akan menyebabkan terjadinya interaksi antara kedua ion tersebut maupun dengan ion-ion lainnya yang terdapat dalam media dalam hal absorpsi komponen zat hara oleh sel-sel kalus. Akibatnya, kompetisi antar ion-ionpun terjadi dan kon disisi ini akan memicu sel-sel kalus untuk mengabsorpsi ion-ion lain secara berlebih guna mensubstitusi kekurangan akan salah satu ion yang dibutuhkan. Sebagai contoh, kekurangan ion Ca^{2+} dapat digantikan dengan mengabsorpsi ion N yang lebih banyak dan kekurangan ion Cu^{2+} dapat digantikan dengan mengabsorpsi ion Zn yang lebih banyak. Hal ini disebabkan oleh adanya sifat antagonisme dari kedua ion tersebut, yaitu adanya penghambatan penyerapan salah satu ion apabila ion satunya dalam kondisi berlebih maupun sebaliknya (Srivastava dan Gupta, 1996).

Kandungan antrakuinon kultur kalus *M. citrifolia*

Antrakuinon merupakan salah satu produk metabolisme sekunder yang dihasilkan oleh spesies *M. citrifolia* di alam. Metabolit ini tidak hanya terakumulasi pada buah saja, tetapi juga pada daun (Abdullah et al., 1998; Mursito, 2000). Hasil penelitian menunjukkan adanya senyawa antrakuinon dari ekstrak sel-sel kalus *M. citrifolia*, yaitu dengan munculnya warna kuning bening yang semakin tua pada konsentrasi antrakuinon yang lebih tinggi. Kadar antrakuinon yang diperoleh untuk tiap-tiap perlakuan dapat dilihat pada Tabel 5.

Tabel 5. Kadar antrakuinon kalus *M. citrifolia* umur 54 hari pada media perlakuan (mmol l^{-1}).

Penambahan Ca^{2+}	Penambahan Cu^{2+}			Rerata C
	E_0	E_1	E_2	
C_0	68 ^a	60 ^a	46 ^a	58 ^a
C_1	66 ^a	65 ^a	40 ^a	57 ^a
C_2	33 ^a	47 ^a	54 ^a	45 ^a
Rerata E	56 ^a	58 ^a	47 ^a	

Keterangan Tabel 3-5: Penambahan Ca^{2+} : C_0 : 0 mg/l, C_1 : 440 mg l^{-1} , C_2 : 880 mg/l. Penambahan Cu^{2+} : E_0 : 0 mg/l, E_1 : 2,5 mg/l, E_2 : 5 mg/l. Angka yang diikuti huruf yang sama pada kolom dan baris yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata pada uji DMRT taraf 5%.

Dari hasil analisis sidik ragam diketahui bahwa semua faktor utama baik penambahan ion Ca^{2+} maupun Cu^{2+} dalam berbagai konsentrasi dan interaksi perlakuan antara kedua ion tersebut dalam berbagai konsentrasi tidak berpengaruh nyata terhadap kadar antrakuinon yang dihasilkan. Hal ini diduga disebabkan oleh adanya elisitor abiotik khususnya pemberian ion-ion metal (Ca^{2+} pada konsentrasi 0 mg/l, 440 mg/l, 880 mg/l dan Cu^{2+} pada konsentrasi 0 mg/l, 2,5 mg/l, 5 mg/l) kurang berpengaruh terhadap proses pengasaman media dan aktivitas enzim yang terlibat dalam sintesis antrakuinon, sehingga dari semua perlakuan yang diberikan menunjukkan hasil perolehan kadar yang hampir sama.

Tingkat keasaman media berpengaruh terhadap proses metabolisme sekunder dari tanaman. Pengasaman media dapat dilakukan dengan berbagai cara, seperti alkalisasi eksternal, penambahan yeast, pemberian asam lemah, maupun pemberian ion Ca^{2+} dalam media (Roos *et al.*, 1998; Johannes *et al.*, 1998). Diperolehnya kadar antrakuinon yang tidak berbeda nyata pada uji statistik diduga disebabkan oleh pH media dari semua perlakuan masih sama seperti kondisi pH semula. Oleh karena itu, sintesis antrakuinon dari sel-sel kalus yang diinduksikan berlangsung dengan laju sintesis yang tetap seperti semula. Hal ini berarti bahwa stres ion metal (Ca^{2+} pada konsentrasi 0 mg/l, 440 mg/l, 880 mg/l dan Cu^{2+} pada konsentrasi 0 mg/l, 2,5 mg/l, 5 mg/l) kurang efektif untuk produksi antrakuinon dari kultur kalus *M. citrifolia*.

KESIMPULAN

Penambahan ion Ca^{2+} (0 mg/l, 440 mg/l, 880 mg/l), ion Cu^{2+} (0 mg/l, 2,5 mg/l, 5 mg/l), maupun kombinasi antara ion Ca^{2+} dan Cu^{2+} tidak berpengaruh nyata terhadap pertumbuhan kalus (laju pertumbuhan kalus, berat kering kalus), dan kadar antrakuinon dari kalus *M. citrifolia* yang dikulturkan. Perlu dilakukan penelitian lanjutan dengan menurunkan konsentrasi penambahan ion Cu^{2+} dibawah 2,5 mg l^{-1} pada media dasar Murashige-Skoog (MS) dan penambahan ion Ca^{2+} dibawah 440 mg/l serta masa tanam kalus dalam media perlakuan yang diperpanjang.

DAFTAR PUSTAKA

- Abdullah, M.A., A.M. Ali, M. Marziah, N.H. Lajis and A.B. Ariff. 1998. Establishment of cell suspension cultures of *Morinda elliptica* for the production of anthraquinones. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 54: 173-182.
- Abidin, Z. 1994. *Dasar-Dasar Pengetahuan Tentang Zat Pengatur Tumbuh*. Bandung: Penerbit Angkasa.
- Bhattacharyya, B. and B.M. Johri. 1998. *Flowering Plants Taxonomy and Phylogeny*. New Delhi: Narosa Publishing House.
- Harborne, J.B. 1996. *Metode Fitokimia* (diterjemahkan oleh Kosasih Padmawinata dan Iwang Sudiro). Bandung: Penerbit ITB.
- Hendaryono, D.P.S. dan A. Wijayani. 1994. *Teknik Kultur Jaringan, Pengenalan dan Petunjuk Perbanyakan Tanaman secara Vegetatif*. Yogyakarta: Penerbit Kanisius.
- Hendaryono, D. P. S. 2000. *Pembibitan Anggrek dalam Botol*. Yogyakarta: Penerbit Kanisius.
- Indrayanto, G. 1987. Produksi metabolit sekunder dengan teknik kultur jaringan tanaman. *Buku Risalah Seminar Nasional Metabolit Sekunder*. Yogyakarta: PAU Bioteknologi UGM.
- Johannes, E., A. Crafts, and D. Sanders. 1998. Control of Cl^- efflux in *Chara corallina* by cytosolic pH, free Ca^{2+} , and phosphorylation indicates a role of plasma membrane anion channels in cytosolic pH regulation. *Plant Physiology* 118: 173-181.
- Kurz, W. G. W. dan F. Constabel. 1991. Produksi dan isolasi metabolit sekunder. Dalam L. R. Wetter dan F. Constabel. *Metode Kultur Jaringan Tanaman* (diterjemahkan oleh Mathilda B. Widiyanto). Bandung: Penerbit ITB.
- Kyte, L. and J. Kleyn. 1996. *Plants Form Test Tubes, An Introduction to Micropopagation*. Portland: Timber Press.
- Mursito, B. 2000. *Tampil Percaya Diri dengan Ramuan Tradisional*. Jakarta: P. T. Penebar Swadaya.
- Paimin, F. R. 2001. Tanaman obat di sekitar kita. *Trubus* 32 (379): 49
- Prawiranata, W., S. Harran dan P. Tjondronegoro. 1995. *Dasar-Dasar Fisiologi Tumbuhan Jilid 1*. Bogor: Departemen Botani FMIPA IPB.
- Reksoatmodjo, I. 1993. *Biologi Sel*. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press.
- Robinson, T. 1991. *Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi* (diterjemahkan oleh Kosasih Padmawinata). Bandung: Penerbit ITB.
- Ross, W., S. Evers, M. Hieke, M. Tschope and B. Schuman. 1998. Shifts of intracellular pH distribution as a part of the signal mechanism leading to the elicitation of benzophenanthridine alkaloids. *Plant Physiology* 118: 349-364.
- Sitinjau, R. R. 2000. Pengaruh pemberian ekstrak *Saccharomyces cereviceae* Hansen terhadap kandungan gosipol pada kultur kalus *Gossypium hirtusum* L. *Berita Biologi* 5 (2): 131-132
- Srivastava, P. C. and U. C. Gupta. 1996. *Trace Element in Crop Production*. New York: Science Publishers, Inc.
- Street, H.E. (ed.). 1972. Plant tissue and cell culture. *Botanical Monographs*. II: 258-260.
- Subowo. 1996. Efek imunodulator dari tumbuhan obat. *Warta Tumbuhan Obat Indonesia* 3 (1): -
- Sudarto, K. 1988. Usaha menumbuhkan kalus dalam kultur jaringan *Allium sativum* Linn. *Buku Risalah Temu Ilmiah*. Yogyakarta: UGM Press. pp: 48-52.
- Sumaryono, W. 1996. Teknologi pembuatan sediaan fitofarmaka skala industri. *Warta Tumbuhan Obat Indonesia* 3 (1): -
- Thomas, A. N. S. 1989. *Tanaman Obat Tradisional 1*. Jakarta: Penerbit Kanisius.

Keanekaragaman Kandungan Minyak Atsiri Rimpang Temu-temuan (*Curcuma*)

Diversity of essential oils constituent of Curcuma

AHMAD DWI SETYAWAN*

Jurusan Biologi FMIPA UNS Surakarta 57126.

*Korespondensi: biodiv@uns.ac.id. Tel./Faks. +6271-663375.

Diterima: 17 Mei 2003. Disetujui: 17 Agustus 2003.

Abstract. *Curcuma* rhizome had been used long time ago as spices, flavoring agents and medicinal substances. This genus consisting of about 20 species based on morphological characters, however, only seven species of them can be obtained and used in this assay, namely *C. aeruginosa* Roxb. (temu ireng), *C. domestica* Val. (kunir), *C. heyneana* Val. & van Zipj. (temu giring), *C. mangga* Val. (temu mangga), *C. purpurascens* Bl. (temu gleyeh), *C. xanthorrhiza* Roxb. (temu lawak), and *C. zedoaria* (Berg.) Rosc. (temu putih). This research was conducted to find out: (i) percentage of volatile oil of seven *Curcuma* species, (ii) type and percentage of volatile oil components of those *Curcuma*, and (iii) similarity index of volatile oil of those *Curcuma* based on type and percentage of each components. The plant materials were gathered from Surakarta, and they were sold at traditional market. Volatile oils were obtained by hydrodistillation method; type and percentage of components were determined by GC method, while similarity index was determined by UPGMA method. The result indicated that (i) volatile oil contents in the seven species of rhizome vary from 0.5-6% (v/w), (ii) the total number of volatile oil components of the rhizome (content >1%) was 64 compounds. The rhizome had 10 major components at the RT value of 5.30, 5.64, 7.98, 13.94, 14.05, 14.38, 15.75, 16.43, 17.11, and 17.78 (iii) the relationships of those seven species were as follows: *C. mangga* and *C. zedoaria* had close relationship on the similarity index of 81%, and then *C. xanthorrhiza* joined on the similarity index of 73%. *C. domestica* and *C. purpurascens* had close relationship on the similarity index of 75%. Those two groups joined at the similarity index of 67%. *C. aeruginosa* and *C. heyneana* had close relationship on the similarity index of 72%. Those three groups joined at the similarity index of 59%. It is usual because they are of the same genus.

Key words: *Curcuma*, Zingiberaceae, volatile oil.

PENDAHULUAN

Kawasan Nusantara pernah dikenal sebagai kepulauan rempah-rempah karena banyaknya tumbuhan atsiri di kawasan ini. Hingga kini terdapat lebih dari 40 jenis tumbuhan penghasil minyak atsiri yang secara ekonomi berpotensi mendatangkan devisa (Manurung, 2002). Salah satu tumbuhan atsiri yang terkenal adalah empon-empon anggota familia Zingiberaceae, misalnya *Curcuma* (Heyne, 1950). Beberapa spesies anggota genus ini dimanfaatkan sebagai bumbu masak, rempah-rempah, sayuran (lalaban), karbohidrat (pati), obat, pewarna alami dan tanaman hias (Holttum, 1950; Heyne, 1950). Namun kualitas dan kuantitas penggunaannya kini menurun akibat substitusi bahan-bahan lain, baik alami maupun sintetis. Pada saat ini, tampaknya hanya kunyit (*Curcuma domestica* Val.) yang tetap banyak diminati pasar. Oleh karena itu perlu dilakukan penelitian biokimia secara mendalam, terhadap seluruh anggota genus *Curcuma* sehingga peluang pemanfaatannya terbuka luas.

Minyak atsiri merupakan suatu campuran senyawa mudah menguap yang kebanyakan tergolong terpenoid (Hegarty dkk., 2001). "Terpene" yang berasal dari bahasa Jerman "turpentine", senyawa terpenoid yang pertama kali

diisolasi, merupakan hidrokarbon yang dibentuk dari unit isopren (C_5), dan menjadi kelompok terbesar metabolit sekunder (senyawa sekunder; bahan alami) tumbuhan (Harborne, 1973). Metabolit sekunder tidak memiliki fungsi khusus dalam metabolisme (Hegarty dkk., 2001), namun secara ekologi sangat penting sebagai penarik, penolak, alelopati, feromon, pertahanan dari herbivora atau mikrobial dan lain-lain (a.l. Grison-Pige dkk., 2001; Agrawal, 1998; 2000). Kini telah diidentifikasi lebih dari 30.000 senyawa sekunder (Buckingham, 1998).

Minyak atsiri sangat penting sebagai penyedap rasa dan sumber obat (Lata dkk., 2000). Minyak atsiri digunakan untuk memberi rasa dan aroma makanan, minuman, parfum dan kosmetik (Hegarty dkk., 2001). Sifat toksik alami minyak atsiri berguna dalam pengobatan (Liu dkk., 1998). Metabolit sekunder merupakan sumber utama senyawa obat (Harvey, 2000). Sekitar 60% penduduk dunia menggunakan tumbuhan untuk pengobatan (Farnsworth, 1994) dan minyak atsiri telah lama dikenal sebagai sumber terapi yang penting, misalnya sebagai senyawa anti bakteri dan anti kanker (Cragg, 1997).

Genus *Curcuma* beranggotakan sekitar 70 spesies (Lawrence, 1951; Purslove, 1972). Di Jawa, terutama Jawa Tengah dan Jawa Timur, terdapat 16 spesies *Curcuma*, umumnya ditanam di

pekarangan atau tumbuh liar di hutan jati dan hutan bambu (Backer dan Bakhuizen van den Brink, 1968; Heyne, 1950). Kebun Raya Bogor mengoleksi sekitar 20 spesies *Curcuma* (Danimiharja dan Notodiharjo, 1978). Dalam Bahasa Indonesia, genus *Curcuma* sering disebut "temu", sebagaimana genus *Zingiber* disebut "lempuyang", meskipun penyebutan ini tidak selalu konsisten (Prana dan Hawkes, 1981).

Informasi kandungan kimia minyak atsiri sangat membantu pengembangan industri makanan, minuman, kosmetika, farmasi, pertanian dan lain-lain. Data kandungan kimia minyak atsiri berguna pula untuk memantapkan status taksonomi *Curcuma*, terlebih sifat morfologi dan anatomi yang digunakan selama ini memberikan data yang relatif terbatas. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui (i) perbandingan kadar minyak atsiri tujuh spesies *Curcuma*, (ii) jumlah jenis (kualitatif) dan kadar (kuantitatif) senyawa penyusun minyak atsiri ketujuhannya, serta (iii) hubungan kekerabatan ketujuhannya berdasarkan jenis dan kadar komponen penyusun minyak atsirinya.

BAHAN DAN METODE

Penelitian ini mencakup: (i) distilasi air (hidrodistilasi) untuk menentukan kadar minyak atsiri dalam rimpang dan memperoleh minyak atsiri untuk uji kromatografi, dan (ii) kromatografi gas cairan (GC) untuk menentukan jumlah dan kadar senyawa-senyawa penyusun minyak atsiri.

Material tumbuhan

Material penelitian berupa rimpang tujuh spesies *Curcuma*, yaitu: *C. aeruginosa* Roxb. (temu ireng), *C. domestica* Val. (kunir), *C. heyneana* Val. & van Zipj. (temu giring), *C. mangga* Val. (temu mangga), *C. purpurascens* Bl. (temu gleyeh), *C. xanthorrhiza* Roxb. (temu lawak), and *C. zedoaria* (Berg.) Rosc. (temu putih). Rimpang dipanen pada musim kemarau dengan umur sekitar 12 bulan dan telah disimpan selama 2-3 bulan pada suhu ruangan. Material dipanen dari kawasan Surakarta dan sekitarnya, serta dapat diperoleh di Pasar Legi, Surakarta. Rimpang spesies sama dari berbagai lokasi, dimana masing-masing merupakan populasi tersendiri (2-5 populasi) dicampur sebagai komposit dan diuji tiga kali.

Cara kerja

Distilasi air. Rimpang pokok (Jawa: *empon*) yang segar, cukup umur, seragam ukuran dan bentuknya dicuci bersih, diiris melintang setebal 1-2 mm, dan dikeringanginkan dengan kipas atau di bawah sinar matahari tidak langsung selama 3-4 hari. Simplisia yang telah kering diblender dan diayak dengan saringan (ϕ 2 mm²), hingga diperoleh serbuk halus. Sebanyak 50-100 g serbuk dimasukkan dalam labu didih 1000 ml, ditambah akuades sampai kira-kira $\frac{3}{4}$ isi labu, dipasang pada alat penyuling Stahl, buret diisi 0,2 ml silen, dan dididihkan selama 4-5 jam hingga minyak atsiri

menguap sempurna. Silen untuk menaikkan daya kohesi minyak diuapkan dengan evaporator bertekanan rendah, lalu ditambah sedikit Na₂SO₄ anhidris agar bebas dari air, disimpan di tempat sejuk (4-5°C), dalam botol gelap dan ditutup rapat (Setyawan, 1996; 2002). Kadar minyak atsiri dinyatakan sebagai jumlah minyak atsiri yang dihasilkan dari 100 g serbuk (v/b; ml/100 g) seperti dalam *Materia Medika Indonesia* (MMI) (Anonim, 1977, 1978, 1979).

Kromatografi gas (GC). Minyak atsiri hasil distilasi dianalisis dengan kromatografi gas untuk menentukan jumlah dan kadar senyawa-senyawa penyusunnya. Jenis senyawa penyusun diidentifikasi berdasarkan puncak yang terbentuk pada kromatogram, yaitu RT (*retention time*). Semua senyawa yang memiliki kadar tinggi ($\geq 1\%$) dianalisis, sedang yang kadarnya rendah ($< 1\%$) diabaikan. RT dianggap sama pada jarak 0,05, apabila terjadi tumpang tindih pada jarak tersebut, maka dilihat nilai di atas atau di bawahnya. Kondisi kromatografi gas (GC) sebagai berikut: merek: Hewlett-Packard 5890 series II, gas pembawa: He, jenis detektor: FID (*flame ionization detector*), jenis kolom: HPS non polar (30 m, ϕ 0.33 mm), kecepatan gas: 10 ml/menit, kenaikan suhu: 10 °C/menit, suhu awal: 120°C, suhu akhir: 270°C, suhu injektor: 260°C, suhu detektor: 270°C, tekanan kolom: 60 kpa, volume: 0,1 μ l, dan waktu awal: 5 menit.

Analisis data

Data jenis dan kadar senyawa penyusun minyak atsiri ketujuh *Curcuma* ditabulasi dalam bentuk biner (0 dan 1) dan dibuat dendrogram. Setiap jenis senyawa yang hadir diberi nilai 1, sedang senyawa yang tidak hadir diberi nilai 0. Dendrogram dibuat secara numerik dengan metode pengelompokan koefisien asosiasi (Sneath dan Sokal, 1973), dimana tingkat persamaan harga-harga koefisien asosiasi ditentukan dengan analisis klaster (Pielou, 1984). Model perhitungan ini tercakup dalam UPGMA (*unweighted pair group method with arithmetic mean*), yang antara lain dikomputasikan dalam program BIOSYS-1 (Swofford dan Selander, 1989).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Identifikasi dan karakterisasi keanekaragaman suatu tanaman sangat penting dalam dunia pertanian dan perdagangan. Marga temu-temuan (*Curcuma*) telah lama dikenal memiliki nilai ekonomi tinggi karena mengandung minyak atsiri. Kandungan kimia minyak atsiri merupakan karakter taksonomi (kemotaksonomi) yang penting.

Kadar minyak atsiri

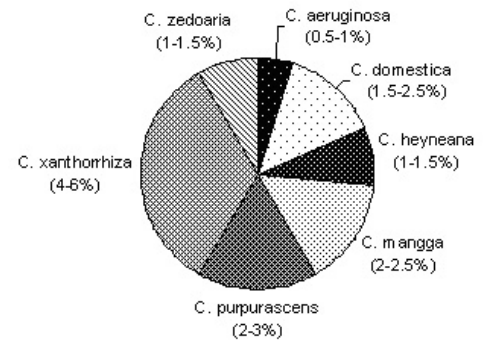
Dari sekitar 20 spesies anggota genus *Curcuma* di Indonesia, hanya tujuh yang dapat disediakan dalam penelitian ini. Ketujuh spesies tersebut beserta kadar minyak atsiri rimpangnya sebagai berikut: *C. aeruginosa* (temu ireng) 0.5-1%, *C. domestica* (kunyit) 1.5-2.5%, *C. heyneana* (temu

Tabel 1. Kadar senyawa-senyawa penyusun minyak atsiri rimpang berbagai spesies *Curcuma*.

No.	Nilai Rf	<i>C. aeruginosa</i>	<i>C. domestica</i>	<i>C. heyneana</i>	<i>C. mangga</i>	<i>C. purpurascens</i>	<i>C. xanthorrhiza</i>	<i>C. zedoaria</i>
1.	3.50	-	-	1.71	1.20	1.06	-	1.26
2.	3.73	-	-	-	9.83	-	1.09	5.36
3.	4.17	-	-	4.61	-	-	-	-
4.	4.33	-	-	3.65	-	-	-	-
5.	4.66	-	4.96	-	-	1.02	-	-
6.	5.12	-	5.89	-	-	7.11	-	-
7.	5.21	-	1.14	-	3.29	1.86	-	-
8.	5.30	2.70	3.15	11.39*	15.53*	14.43*	-	-
9.	5.37	-	-	-	2.84	-	-	-
10.	5.64	-	-	-	14.58*	-	-	-
11.	6.64	-	1.85	-	-	2.40	-	-
12.	6.89	-	-	3.50	2.26	-	-	-
13.	7.98	-	-	1.67	28.95**	2.60	2.84	1.14
14.	8.09	-	-	-	1.12	-	-	-
15.	8.87	-	-	-	-	1.78	-	-
16.	10.25	-	-	-	8.06	-	-	-
17.	10.52	-	-	-	1.49	-	-	-
18.	10.81	-	-	-	-	-	-	2.72
19.	11.01	-	-	1.00	-	-	-	-
20.	12.52	-	-	-	3.25	-	-	-
21.	12.58	1.37	-	2.34	-	-	1.11	-
22.	12.76	-	-	-	-	-	1.34	-
23.	13.04	-	-	1.28	-	1.39	-	-
24.	13.22	-	-	-	-	3.80	1.34	-
25.	13.50	-	-	-	-	-	2.24	-
26.	13.94	-	2.65	-	-	1.80	24.83**	-
27.	14.05	-	-	2.42	-	-	-	17.68*
28.	14.18	1.07	-	1.71	-	1.27	5.07	-
29.	14.38	-	-	-	-	-	28.77**	-
30.	14.50	-	2.43	-	-	1.30	-	-
31.	14.82	-	-	-	-	1.02	-	-
32.	14.91	-	-	-	-	1.14	1.04	-
33.	15.07	-	1.00	-	-	8.89	3.93	-
34.	15.24	-	-	-	-	1.84	-	-
35.	15.28	-	1.19	-	-	1.00	-	-
36.	15.42	-	-	4.65	-	-	-	-
37.	15.52	-	-	1.10	-	-	-	-
38.	15.67	-	1.31	2.42	-	-	1.78	-
39.	15.75	33.33**	-	1.19	-	-	-	-
40.	15.90	1.33	-	-	-	1.25	-	-
41.	15.99	2.15	1.27	4.45	-	-	-	-
42.	16.12	-	-	1.48	-	-	-	-
43.	16.29	1.11	-	5.67	-	-	-	-
44.	16.43	-	33.06**	-	-	13.86*	2.14	-
45.	16.47	-	9.18	-	-	-	-	-
46.	16.53	-	-	1.05	-	-	-	-
47.	16.85	2.46	13.10	2.94	-	3.91	5.75	-
48.	17.00	1.00	-	1.09	-	-	-	-
49.	17.08	-	-	-	-	1.83	-	-
50.	17.11	20.00**	-	1.17	-	-	-	-
51.	17.16	-	-	1.10	-	-	-	-
52.	17.30	3.33	-	2.55	-	-	-	-
53.	17.42	-	-	-	-	-	7.03	-
54.	17.48	-	-	4.56	-	-	-	-
55.	17.54	4.35	-	5.86	-	-	-	-
56.	17.68	-	1.00	2.37	-	1.66	-	-
57.	17.72	-	-	-	-	1.18	-	-
58.	17.78	-	-	-	-	-	-	67.78**
59.	17.93	4.30	-	5.12	-	-	-	-
60.	18.02	1.00	-	-	-	-	-	-
61.	18.48	3.41	-	-	-	-	-	-
62.	18.60	1.22	-	1.00	-	-	-	-
63.	20.07	-	1.60	-	-	-	-	-
64.	20.25	1.46	-	-	-	-	-	-
Total % (> 1%)		85.59	84.78	85.05	92.4	79.4	90.3	95.94
Jumlah komponen		17	16	29	12	25	15	6
Komponen utama		2	1	1	3	2	2	2
Kadar minyak (%)		0.5-1	1.5-2.5	1-1.5	2-2.5	2-3	4-6	1-1.5

Keterangan: "-" tidak ada atau < 1%; "*" komponen mayor ($\geq 10\%$); "**" komponen mayor dengan kadar sangat tinggi ($\geq 20\%$).

giring) 1-1.5%, *C. mangga* (temu mangga) 2-2.5%, *C. purpurascens* (temu glenyeh) 2-3%, *C. xanthorrhiza* (temu lawak) 4-6%, dan *C. zedoaria* (temu putih) 1-1.5%. Spesies-spesies tersebut dapat dijumpai di pasaran, menunjukkan adanya nilai ekonomi dan manfaat bagi masyarakat (Gambar 1.).

**Gambar 1.** Kadar minyak atsiri tujuh spesies *Curcuma*.

Kadar minyak atsiri tumbuhan dipengaruhi oleh umur panen, bagian organ yang disuling, musim pemanenan, tanah dan iklim tempat penanaman, varietas atau spesies yang ditanam, metode isolasi, serta faktor-faktor lingkungan lainnya (Estell dkk., 1994; Gersbenzon dan Croteau 1991; Guenther, 1948). Di antara faktor-faktor tersebut, faktor genetik yang ditunjukkan oleh perbedaan spesies merupakan faktor utama yang menyebabkan perbedaan kandungan minyak atsiri (Estell dkk., 1994).

Secara organoleptik, kualitas bau yang dihasilkan dari rimpang yang diremas dapat digunakan sebagai penduga kadar minyak atsiri. Dalam penelitian ini, rimpang *C. xanthorrhiza* yang mengandung minyak atsiri sebanyak 4-6% memiliki aroma khas atsiri sangat kuat, diikuti rimpang *C. domestica* (1.5-2.5%), *C. mangga* (2-2.5%), dan *C. purpurascens* (2-3%), sedangkan temu lainnya memiliki rimpang dengan bau yang relatif netral yaitu: *C. aeruginosa* (0.5-1%), *C. heyneana* (1-1.5%), dan *C. zedoaria* (1-1.5%).

Komposisi minyak atsiri

Ketujuh spesies *Curcuma* secara keseluruhan menunjukkan 64 senyawa penyusun minyak atsiri (Tabel 1). *C. heyneana* memiliki 29 senyawa, diikuti *C. purpurascens* 25, *C. aeruginosa* 17, *C. domestica* 16, *C. mangga* 12, *C. xanthorrhiza* 15, dan *C.*

zedoaria 6 senyawa. Secara keseluruhan pada ketujuh spesies *Curcuma* ditemukan sepuluh senyawa utama ($\geq 10\%$), yakni terletak pada RT 5.30, 5.64, 7.98, 13.94, 14.05, 14.38, 15.75, 16.43, 17.11, dan RT 17.78.

C. mangga memiliki tiga senyawa utama, yaitu RT 5,39 (15,53%), 6,64 (14,58%), dan 7,98 (28,95%). *C. aeruginosa*, *C. purpurascens*, *C. xanthorrhiza*, dan *C. zedoaria* masing-masing memiliki dua senyawa utama. Pada *C. aeruginosa* terletak pada RT 15,75 (33,33%) dan 17,11 (20,00%). Pada *C. purpurascens* terletak pada RT 5,30 (14,43%) dan 16,43 (13,86%). Pada *C. xanthorrhiza* terletak pada RT 13,94 (24,83%) dan 14,38 (28,77%). Adapun pada *C. zedoaria* terletak pada RT 14,05 (17,68%) dan 17,78 (67,78%). Sedang *C. domestica* dan *C. heyneana* masing-masing hanya memiliki satu senyawa utama, yakni secara berturut-turut terletak pada RT 16,43 (33,06%) dan 5,30 (11,39%). Diketahuinya senyawa-senyawa utama memungkinkan isolasi lebih lanjut untuk tujuan-tujuan tertentu, khususnya pengobatan, meskipun daya kerja minyak atsiri seringkali merupakan sinergi keseluruhan komponen yang terkandung di dalamnya, bukan satu atau beberapa komponen saja.

Ketujuh spesies *Curcuma* secara keseluruhan memiliki 30 senyawa khas, yakni senyawa yang hanya muncul pada satu spesies. *C. aeruginosa* memiliki tiga senyawa khas terletak pada RT 10.02, 18.48, dan 20.25. *C. domestica* memiliki dua senyawa khas terletak pada RT 16,47 dan 20,07. *C. heyneana* memiliki sembilan senyawa khas terletak pada RT 4.17, 4.33, 11.01, 15.42, 15.52, 16.12, 16.53, 17.16, dan 17.48. *C. mangga* memiliki enam senyawa khas terletak pada RT 5.37, 5.64, 8.09, 10.25, 10.52, dan 12.52. *C. purpurascens* memiliki lima senyawa khas terletak pada RT 8.87, 14.82, 15.24, 17.08, dan 17.48. *C. xanthorrhiza* memiliki tiga senyawa khas terletak pada RT 13.50, 14.38 dan 17.42. *C. zedoaria* memiliki satu senyawa khas terletak pada RT 17.78.

Dalam penelitian ini ditemukan beberapa senyawa khas yang sekaligus sebagai senyawa utama, yaitu senyawa dengan RT 5.64 pada *C. mangga* (14.58%), RT 14.38 pada *C. xanthorrhiza* (28.77%), dan RT 17.78 pada *C. zedoaria* (67.78%). Senyawa-senyawa ini hanya ditemukan pada tumbuhan dimaksud dengan kadar sangat tinggi, sehingga sangat berguna sebagai penanda kimia taksonomi (kemotaksonomi) untuk membedakan satu spesies dengan spesies lain. Di samping itu berguna pula untuk mengetahui kemurnian suatu minyak atsiri, meskipun untuk mengetahui adanya pemalsuan produk minyak atsiri tetap perlu dilakukan pembacaan secara keseluruhan terhadap kromatogram.

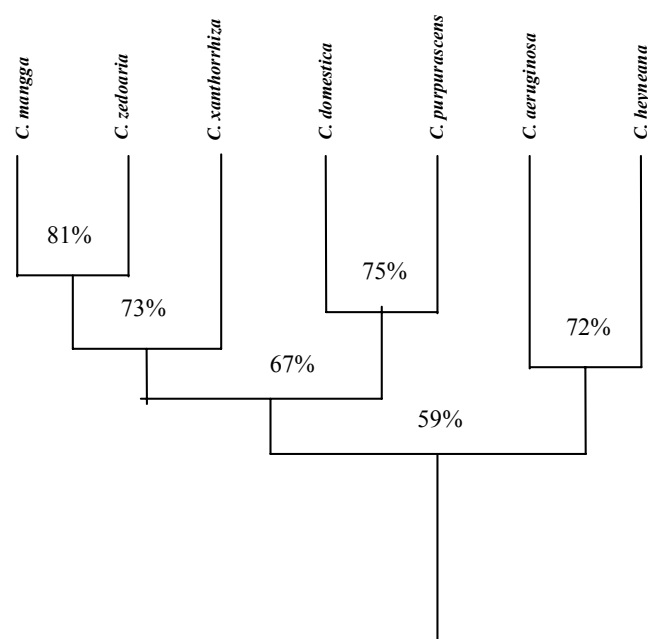
Pada ketujuh spesies *Curcuma*, kebanyakan senyawa muncul pada 2-5 spesies. Senyawa dengan RT 5.30 muncul pada lima spesies, yaitu *C. aeruginosa*, *C. domestica*, *C. heyneana*, *C. mangga*, dan *C. purpurascens*, pada tiga spesies terakhir sekaligus merupakan senyawa utama. Senyawa dengan RT 7.98 juga muncul pada lima spesies,

yaitu *C. heyneana*, *C. mangga*, *C. purpurascens*, *C. xanthorrhiza*, dan *C. zedoaria*. Pada *C. mangga* senyawa dengan RT 5.30 merupakan senyawa utama dengan kadar sangat tinggi (28,95%), sehingga dapat digunakan sebagai penanda kimia mengingat pada spesies lain kadarnya kurang dari 3%.

Kadar keseluruhan minyak atsiri maupun komponen di dalamnya dapat bervariasi terutama disebabkan umur panen, jenis dan tempat tumbuh (Tucker dkk., 1976), namun keberadaan senyawa utama selalu konsisten (Nagy dan Regelin, 1977). Komposisi minyak atsiri dapat berubah-ubah karena dapat mengalami penyusunan kembali secara intramolekuler (Guenther, 1948). Variasi kimia komponen penyusun minyak atsiri disebabkan adanya proses hidroksilasi, metilasi, pembentukan glikosida, pembentukan disakarida dan lain-lain (Denford, 1984). Hal ini biasa ditemukan pada senyawa sesquiterpen, salah satu kelompok minyak atsiri yang bernilai tinggi untuk taksonomi, karena umumnya sangat khas untuk spesies tumbuhan tertentu, sehingga dapat membedakan spesies, populasi bahkan individu.

Hubungan kekerabatan dan kemotaksonomi

Indeks similaritas (tingkat kesamaan) ketujuh spesies *Curcuma* berdasarkan jenis komponen-komponen penyusun minyak atsiri relatif tinggi, sekurang-kurangnya hingga 59% (Gambar 2). Hal ini wajar mengingat mereka masih dalam satu genus. Dalam taksonomi numerik, spesies dengan indeks similaritas hingga 60% biasa digolongkan dalam satu genus.



Gambar 2. Dendrogram hubungan kekerabatan pada tujuh spesies *Curcuma*. Keterangan: persentase menunjukkan indeks similaritas.

Dalam penelitian ini ketujuh spesies *Curcuma* membentuk tiga kelompok. Kelompok pertama: *C. mangga* dan *C. zedoaria* bergabung dengan indeks similaritas 81%, selanjutnya *C. xanthorrhiza* bergabung dengan indeks similaritas 73%. Kelompok kedua *C. domestica* dan *C. purpurascens* bergabung dengan indeks similaritas 75%. Kelompok ketiga: *C. aeruginosa* dan *C. heyneana* bergabung dengan indeks similaritas 72%. Selanjutnya ketiga kelompok ini bergabung dengan indeks similaritas 59%.

Kekusutan status taksonomi *Curcuma* seringkali terjadi antara *C. mangga* dan *C. zedoaria*. Secara morfologi penampakan umum keduanya cenderung sama, namun rimpang *C. mangga* berbau mangga muda dan tidak berasa pahit, sedangkan *C. zedoaria* berbau netral dan berasa sangat pahit. Dalam dunia perdagangan, kedua spesies ini sering dikacaukan dan sama-sama disebut "temu putih". Padahal keduanya diduga memiliki kasiat yang berbeda, seperti terlihat dari perbedaan RT senyawa-senyawanya. Namun indeks similaritas minyak atsiri keduanya yang cukup tinggi (81%), menunjukkan bahwa mereka sama-sama memiliki sejumlah besar senyawa yang sama, dan sebaliknya sama-sama tidak memiliki sejumlah besar senyawa yang dimiliki kelima *Curcuma* lainnya (Tabel 1).

C. domestica dan *C. purpurascens* yang bergabung dengan indeks similaritas 75%, secara morfologi memiliki banyak persamaan. Bentuk dan warna rimpang keduanya relatif sama, meskipun baunya cenderung berbeda. Simlisia *C. domestica* kualitas rendah kadang-kadang dicampuri *C. purpurascens* untuk menekan harga jual. Dari Tabel 1 tampak bahwa keduanya memiliki banyak senyawa yang sama, bahkan salah satunya merupakan senyawa utama yaitu RT 16.47, kadarnya secara berturut-turut adalah 33.06% dan 13.86%.

Selama ini taksonomi Zingiberaceae didasarkan pada karakter morfologi bunga (e.g. Holttum, 1950), meski terdapat pula karakter lain yang sangat prospektif sebagai sifat pembeda taksonomi, yaitu minyak atsiri (Setyawan, 1996). Kandungan fitokimia kadang-kadang menjadi pemicu dilakukannya revisi taksonomi (Hegnauer, 1986). Kemotaksonomi berkembang pesat sejalan dengan perkembangan metode kimia, khususnya kromatografi (Harborne, 1973). Kemotaksonomi dapat menggunakan berbagai macam metabolit sekunder, seperti fenol, alkaloid, terpenoid dan asam amino non-protein (Smith, 1976).

Perkembangan metode kimia terbaru memungkinkan komposisi minyak atsiri dapat ditentukan secara cepat dan menyeluruh (Hegarty dkk., 2001). Karakter kimia memiliki kelebihan dari pada karakter morfologi dan anatomi, karena bahan yang dianalisis tidak harus segar dan lengkap. Bahan kering dan remuk sekalipun dapat dianalisis dan ditempatkan secara tepat dalam sistem klasifikasi, selama tidak ada kontaminasi mikrobial atau bahan lain. Spesimen herbarium berumur ratusan tahun tetap dapat diuji kandungan metabolit sekundernya dengan tepat (Harborne, 1973).

Di luar kemotaksonomi, kajian keanekaragaman hayati *Curcuma*, sebagaimana anggota Zingiberaceae lainnya, dapat dilakukan secara lebih mendalam dengan beberapa metode baru, seperti data kromosom, isozim dan DNA. Penelitian lanjut dengan isozim yang dipadukan dengan data-data kromosom, seperti karyotipe dan sitogenetika molekuler akan sangat membantu identifikasi keanekaragaman *Curcuma*, terlebih apabila dipadukan dengan data sekuens DNA (Apavratjurt dkk., 1999).

KESIMPULAN

Hasil penelitian menunjukkan bahwa kadar minyak atsiri ketujuh spesies *Curcuma* bervariasi antara 0.5-6 (v/b). Jumlah keseluruhan senyawa minyak atsiri rimpang ketujuh spesies (kadar $\geq 1\%$) adalah 64 senyawa. Terdapat 10 senyawa utama dengan kadar cukup tinggi ($\geq 10\%$) yang terletak pada RT 5.30, 5.64, 7.98, 13.94, 14.05, 14.38, 15.75, 16.43, 17.11, dan 17.78. Hubungan kekerabatan ketujuh spesies sebagai berikut: *C. mangga* dan *C. zedoaria* berkerabat dekat pada indeks similaritas 81%, selanjutnya *C. xanthorrhiza* bergabung dengan keduanya pada indeks similaritas 73%. *C. domestica* dan *C. purpurascens* berkerabat dekat pada indeks similaritas 75%. Kedua kelompok ini bergabung pada indeks similaritas 67%. *C. aeruginosa* dan *C. heyneana* berkerabat dekat pada indeks similaritas 72%. Ketiga kelompok tersebut berkerabat dekat pada indeks similaritas 59%. Hal ini biasa mengingat mereka masih termasuk dalam satu genus.

UCAPAN TERIMAKASIH

Penelitian ini dibiayai oleh Proyek Pengkajian dan Penelitian Ilmu Pengetahuan Terapan, Direktorat Pembinaan Penelitian dan Pengabdian pada Masyarakat, Direktorat Jendral Pendidikan Tinggi, Departemen Pendidikan Nasional, untuk itu penulis mengucapkan terimakasih. Catatan Redaksi: Tulisan ini telah disetujui untuk diterbitkan dalam jurnal BioSMART/Biodiversitas namun dengan alasan teknis diterbitkan pada jurnal Biofarmasi.

DAFTAR PUSTAKA

- Agrawal, A.A. 1998. Induced responses to herbivory and increased plant performance. *Science* 297: 1201-1202.
- Agrawal, A.A. 2000. Mechanisms, ecological consequences and agricultural implications of tri-trophic interactions. *Current Opinion on Plant Biology* 3:329-335.
- Anonim. 1977. *Materia Medika Indonesia*. Jilid I. Jakarta: Depkes RI.
- Anonim. 1978. *Materia Medika Indonesia*. Jilid II. Jakarta: Depkes RI.
- Anonim. 1979. *Materia Medika Indonesia*. Jilid III. Jakarta: Depkes RI.
- Apavratjurt, P., S. Anuntalabhochai, P. Sirirungsa, and C. Alisi. 1999. Molecular markers in the identification of

- some early flowering *Curcuma* L. (Zingiberaceae) species. *Annual of Botany* 84: 529-534.
- Backer, C.A. dan R.C. Bakhuizen van den Brink. 1968. *Flora of Java*. Volume III. Groningen: Wolters Noordhoff.
- Buckingham, J. 1998. *Dictionary of Natural Products*. London: Chapman and Hall.
- Cragg, G.M. 1997. Natural products in drug discovery and development. *Journal of Natural Product* 60: 52-60.
- Danimiharja, S. dan D. Notodiharjo. 1978. *An Alphabetical List of Plant Species Cultivated in the Hortus Botanicus Bogoriense*. Bogor: Kebun Raya LBN LIPI.
- Denford, K.E. 1984. Phytochemical approaches to biosystematics. In Grant, W.F. (ed.) *Plant Biosystematics*. Toronto: Academic Press.
- Estell, R.E., E.L. Frederickson, D.M. Anderson, W.F. Mueller, and M.D. Remmenga. 1994. Relationship of tarbush leaf surface secondary chemistry to livestock herbivory. *Journal of Range Management* 47: 424-428.
- Farnsworth, N.R. 1994. *Ethnobotany and the Search for New Drugs*. New York: John Wiley and Sons.
- Gersbenzon, J. and R. Croteau. 1991. Terpenoids. In: Rosenthal, G.A. and M.R. Berenbaum (eds.). *Herbivores, Their Interactions with Secondary Plant Metabolites. Volume 1: The Chemical Participants*. San Diego: Academic Press.
- Grisson-Pige L, J.L. Salanger, M. Martine-Hossaert-McKey, and J. Roy. 2001. Carbon allocation to volatiles and other reproductive components in male *Ficus carica* (Moraceae). *American Journal of Botany* 88 (12): 2214-2220.
- Guenther E. 1948. *The Essential Oils*. Vol. I. Toronto: D. van Nostrand Co., Inc.
- Harborne, J.B. 1973. *Phytochemical Methods*. London: Chapman and Hall.
- Harvey, A. 2000. Strategies for discovering drugs from previously unexplored natural products. *Drug Discovery Today* 5 (7): 294-300.
- Hegarty, M.P, E.E. Hegarty, and R.B.H. Wills. 2001. *Australian Plant Bushfoods*. Kingston: Rural Industries Research and Development Corporation.
- Hegnauer, R. 1986. Phytochemistry and plant taxonomy- an essay on the chemotaxonomy of higher plants. *Phytochemistry* 25 (7): 1519-1535.
- Heyne, K. 1950. *De Nuttige Planten van Indonesie*. Deel I. 's-Gravenhage: W. van Hoeve.
- Holttum, R.E. 1950. The Zingiberaceae of the Malay Peninsula. *The Gardens Singapore* 13 (1): 1-249.
- Lata K., S. Mande S, and V.V.N. Kishore. 2000. *Studies on Quality Improvement of Large-Cardamom using an Advanced Gasifier based Dryer*. New Delhi: Tata Energy Research Institute.
- Lawrence, G.H.M. 1951. *Taxonomy of Vascular Plant*. New York: John Wiley & Sons.
- Liu, Z., S.B. Carpenter, W.J. Bourgeois, Y. Yu, R.J. Constantin, M.J. Falcon, and J.C. Adams. 1998. Variations in the secondary metabolite camptothecin in relation to tissue age and season in *Camptotheca acuminata*. *Tree Physiology* 18: 265-270.
- Manurung, T.R. 2002. Minyak atsiri, karunia untuk bangsa Indonesia. *Trubus* 33 (392): 68-69.
- Nagy, J.G. and W. L. Regelin. 1977. Influence of plant volatile oils on food selection by animals. *XIIIth Congress of Game Biology* 13: 225-229.
- Pielou, E.C. 1984. *The Interpretation of Ecological Data. A Primer on Classification and Ordination*. New York: John Wiley and Sons.
- Prana, M.S. dan J.G. Hawkes, 1981, Kunyit atau Koneng dan Kerabat-kerabat Dekatnya sebagai Bahan Pangan, *Buletin Kebun Raya Bogor* 5 (1): -
- Purseglove, J.W. 1972. *Tropical Crops Monocotyledons*. London: Longman.
- Setyawan, A.D. 1996. *Kekerabatan Berdasarkan Sifat-sifat Morfologi, Anatomi dan Kandungan Kimia Minyak Atsiri pada Anggota Familia Zingiberaceae*. [Skripsi]. Yogyakarta: Fakultas Biologi UGM.
- Setyawan, A.D. 2002. Chemotaxonomic studies on the genus *Amomum* based on chemical components of volatile oils. *Hayati* 9 (3): 71-79.
- Smith, P.M. 1976. *The Chemotaxonomy of Plants*. London: Edward Arnold.
- Sneath, P.H.A and R.R. Sokal. 1973. *Numerical Taxonomy*. San Francisco: W.H. Freeman and Co.
- Swofford, D.L. and R.B. Selander. 1989. *BIOSYS-1: a computer program for the analysis of allelic variation in population genetics and biochemical systematics*, release 1.7. Illinois: Natural History Survey.
- Tucker, R.E., W. Majak, P.D. Parkinson, and A. McLean. 1976. Palatability of Douglas fir foliage to mule deer in relation to chemical and spatial factors. *Journal of Range Management* 29: 486-489.

Aktivitas Analgetik Ekstrak Umbi Teki (*Cyperus rotundus* L.) pada Mencit Putih (*Mus musculus* L.) Jantan

An analgetic activity of sedges (Cyperus rotundus L.) extract on white male mice (Mus musculus L.)

HESTI PUSPITASARI, SHANTI LISTYAWATI*, TETRI WIDIYANI

Jurusan Biologi FMIPA UNS Surakarta 57126.

*Korespondensi: shan_l@mipa.uns.ac.id. Tel./Faks. +6271-663375.

Diterima: 27 Juni 2003. Disetujui: 17 Agustus 2003.

Abstract. The objectives of the research were to find out the effect of giving sedges root extract orally on the number of writhing after chemical pain induction and time reaction after thermal pain induction of mice and also to find out the extract dosage which had an influence on decreasing number of writhing after chemical pain induction and length of reaction time after thermal pain induction of mice. The Complete Random Design (CRD) with 6 treatment groups and each treatment used 5 repetitions were used in this study. The groups were: Group I, control group, treated with sedges root extract of 0 mg/ 20 g BW, 0,5 ml; Group II treated with sedges root extract of 1 mg/ 20 g BW, 0,5 ml; Group III treated with sedges root extract of 3 mg/ 20 g BW, 0,5 ml; Group IV treated with sedges root extract of 5 mg/ 20 g BW, 0,5 ml; Group V treated with sedges root extract of 7 mg/ 20 g BW, 0,5 ml; Group VI treated with asetosal 200 mg/ kg BW, 0,5 ml/ 20 g BW and for the activity test, the sedges root extract was suspended in CMC 1%. Induction of chemical pain was done according to Witkin *et al.* (1965) in Pudjiastuti *et al.* (2000), in which 0,1 ml 3% of Acetic Acid/ 20 g BB was injected intraperitoneally 30 minutes after giving oral-material test. The mouse gave a response in the way of *writhing*. Thermal pain induction was done by placing the mouse on *hot plate* with constant temperature of 55°C. The mouse gave a response in the way of lick its back foot or even jumping. The data collected was analyzed using one direction ANOVA model and it was continued with LSD test in order to find out the difference every treatment group. The result of the analysis showed that the sedges root extract dosage of 7 mg/ 20 g BB decreased the number of *writhing* after chemical pain induction and length of mouse *time reaction* after thermal pain induction, so that sedges root extract dosage 7 mg/ 20 g BB had an analgetic function.

Key words: *analgetic*, sedges root extract, *writhing*, time reaction.

PENDAHULUAN

Di tanah air kita, di samping pelayanan kesehatan formal, pengobatan dengan cara tradisional dan pemakaian obat tradisional masih banyak dilakukan oleh masyarakat secara luas baik di daerah pedesaan maupun daerah perkotaan. Hal ini muncul sebagai akibat banyak dijumpainya efek samping yang tidak dikehendaki dari penggunaan obat kimia murni (Hargono, 1997). Teki merupakan herba menahun yang tumbuh liar dan kurang mendapat perhatian, padahal bagian tumbuhan ini terutama umbinya dapat digunakan sebagai analgetik (Sudarsono dkk., 1996). Umbi teki ini mengandung komponen-komponen kimia antara lain minyak atsiri, alkaloid, flavonoid, polifenol, resin, amilum tanin, triterpen, d-glukosa, d-fruktosa dan gula tak mereduksi (Murnah, 1995). Adanya minyak atsiri ini bersifat analgetik (Pudjiastuti dkk., 1996). Ekstrak 20% etanol teki secara sub kutan dapat berefek menghilangkan rasa sakit dan menurunkan panas badan atau efek analgetik dan antipiretik (Sudarsono dkk., 1996).

Obat analgetik merupakan kelompok obat yang memiliki aktivitas mengurangi rasa nyeri tanpa menghilangkan kesadaran. Pengujian aktivitas

analgetik dilakukan dengan dua metode yaitu induksi nyeri cara kimiawi dan induksi nyeri cara termik. Daya kerja analgetik dinilai pada hewan dengan mengukur besarnya peningkatan stimulus nyeri yang harus diberikan sampai ada respon nyeri atau jangka waktu ketahanan hewan terhadap stimulus nyeri (Sirait dkk., 1993).

Rasa nyeri setelah induksi nyeri cara kimiawi pada hewan uji ditunjukkan dalam bentuk gerakan geliat, frekuensi gerakan ini dalam waktu tertentu menyatakan derajat nyeri yang dirasakannya, sedangkan rasa nyeri setelah induksi nyeri cara termik pada hewan uji ditunjukkan dengan menjilat kaki belakang atau meloncat saat diletakkan di atas *hot plate*. Selang waktu antara pemberian stimulus nyeri yang berupa panas sampai terjadinya respon disebut waktu reaksi. Obat-obat analgetik dapat memperpanjang waktu reaksi ini (Sirait dkk., 1993; Sumardiyanta, 1999). Hasil penelitian terdahulu yang telah dilakukan oleh Sumardiyanta (1999) yaitu dalam bentuk infus umbi teki dengan induksi nyeri cara termik didapatkan bahwa infus umbi teki tersebut dapat memperpanjang waktu reaksi mencit, sedangkan penelitian ini menggunakan umbi teki dalam bentuk ekstrak dan pengujian aktivitas analgetik menggunakan dua metode yaitu

cara termik dan cara kimiawi.

Nyeri merupakan mekanisme untuk melindungi tubuh terhadap suatu gangguan dan kerusakan di jaringan seperti peradangan, infeksi jasad renik dan kejang otot dengan pembebasan mediator nyeri yang meliputi prostaglandin, bradikinin, serotonin, histamin, ion kalium dan asetilkolin (Mutschler, 1991; Guyton, 1995; Tjay dan Rahardja, 2002). Nyeri permukaan dapat terjadi apabila ada rangsangan secara kimiawi, fisik, mekanik pada kulit, mukosa, dan akan terasa nyeri di daerah rangsang. Nyeri pertama terbentuk setelah tertusuk pada kulit dan cepat hilang setelah berakhirnya rangsang dengan pembebasan mediator nyeri yaitu bradikinin, serotonin, histamin, ion kalium dan asetilkolin. Nyeri kedua bersifat membakar yang lambat hilang dengan pembebasan prostaglandin sebagai mediator yang spesifik untuk nyeri yang berlangsung lama (Satyanegara, 1978; Mutschler, 1991).

Nyeri pertama dihantarkan oleh serabut nyeri jenis A delta yaitu serabut saraf dengan pembungkus lapisan bermielin, garis tengah 2-5 μm . Serabut nyeri jenis A delta ini menghantarkan isyarat nyeri lebih cepat dari saraf perifer ke medula spinalis karena terjadi penghantaran rangsang secara saltatoris (gaya melompat) yaitu dari satu nodus Ranvier ke nodus Ranvier lain, antar nodus-nodus ini dilewati oleh garis aliran listrik dan dengan penghantaran saltatoris ini dimungkinkan suatu laju penghantaran yang lebih cepat sampai dengan 120 m/det (Satyanegara, 1978; Mutschler, 1991; Guyton, 1995).

Nyeri viseral merupakan nyeri yang berasal dari otot dan jaringan ikat organ-organ dalam, berlangsung lama dengan pembebasan prostaglandin. Salah satu nyeri dalam yang paling sering terjadi adalah nyeri abdomen yang terjadi pada tegangan organ abdomen, kejang otot polos dalam abdomen, aliran darah ke abdomen kurang dan penyakit yang disertai radang. Isyarat nyeri viseral yang berasal dari dalam rongga toraks dan abdomen dihantarkan melalui serabut jenis C yaitu serabut saraf tak bermielin dengan garis tengah 0,4-1,2 μm . Serabut saraf jenis C ini menghantarkan isyarat nyeri lebih lambat karena penghantaran rangsang pada serabut saraf yang tak bermielin terjadi secara sinambung dengan laju penghantaran 0,5-15 m/det (Mutschler, 1991; Guyton, 1995; Ganong, 1999).

Reseptor nyeri di dalam kulit dan jaringan lainnya merupakan ujung saraf bebas. Reseptor ini tersebar luas pada permukaan superfisial kulit dan juga di jaringan-jaringan dalam tertentu (Guyton, 1994). Reseptor lainnya yang sensitif terhadap suhu panas atau dingin yang ekstrem disebut reseptor nyeri termosensitif yang meneruskan nyeri kedua melalui serabut C yang tak bermielin. Reseptor ini mempunyai respon terhadap suhu dari 30°C-45°C dan pada suhu diatas 45°C, mulai terjadi kerusakan jaringan dan sensasinya berubah menjadi nyeri (Mutschler, 1991; Guyton, 1994; Tjay dan Rahardja, 2002).

Prostaglandin merupakan hormon lokal yang disintesis di berbagai organ dan bekerja di tempat itu juga. Prostaglandin dilepaskan ke peredaran darah dengan cepat saat terjadi kerusakan jaringan. Prostaglandin terlibat pada terjadinya nyeri yang berlangsung lama, proses peradangan dan timbulnya demam (Mutschler, 1991; Nogrady, 1992; Tjay dan Rahardja, 2002). Rangsang nyeri yang berupa kimiawi dan termik menyebabkan kerusakan membran sel berarti kerusakan jaringan. Kerusakan jaringan diikuti dengan pembebasan mediator nyeri yang merangsang reseptor nyeri dalam kulit dan jaringan dalam untuk diteruskan ke dalam radiks dorsalis medula spinalis melalui serabut saraf aferen. Pada tempat ini terjadi refleks pertahanan Serabut-serabut saraf aferen tersebut berakhir dalam formasio retikularis yang merupakan suatu jaringan neuron yang berhubungan satu sama lain dalam batang otak. Dari formasio retikularis, impuls nyeri dihantarkan ke talamus opticus, kemudian ke korteks serebri untuk dapat diketahui tempat terjadinya nyeri, dari sini impuls nyeri juga dikirimkan ke serebellum. Serebrum dan serebellum bersama-sama melakukan reaksi pertahanan dan perlindungan yang terkoordinasi (Mutschler, 1991).

Pengujian aktivitas analgetik suatu bahan uji pada induksi nyeri cara kimiawi yang responnya berupa geliat harus ditentukan daya analgetiknya. Daya analgetik merupakan perbandingan antara jumlah geliat rata-rata kelompok perlakuan dengan jumlah geliat rata-rata kelompok kontrol. Daya analgetik untuk mengetahui besarnya kemampuan bahan uji tersebut dalam mengurangi rasa nyeri kelompok kontrol. Dari daya analgetik dapat dijadikan dasar untuk perhitungan efektifitas analgetik yang dibandingkan dengan pembanding analgetik untuk mengetahui keefektifan bahan uji yang diduga berfungsi sebagai analgetik (Turner, 1965; Kardoko dan Eleison, 1999; Pudjiastuti dkk., 2000).

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek pemberian ekstrak umbi teki secara oral terhadap jumlah geliat yang timbul pada mencit setelah induksi nyeri cara kimiawi dan waktu reaksi mencit setelah induksi nyeri cara termik; besarnya dosis pemberian ekstrak umbi teki secara oral yang dapat berpengaruh nyata dalam mengurangi jumlah geliat yang timbul pada mencit setelah induksi nyeri cara kimiawi dan memperpanjang waktu reaksi mencit setelah induksi nyeri cara termik.

BAHAN DAN METODE

Waktu dan tempat penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan September-Oktober 2002 di Unit Pengembangan Hewan Percobaan (UPHP) UGM Yogyakarta untuk metode induksi nyeri cara kimiawi, sedangkan untuk penghitungan waktu reaksi metode induksi nyeri cara termik dilakukan di Laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran Hewan UGM Yogyakarta dan untuk pembuatan ekstrak umbi teki dilakukan di PPOT (Pusat Penelitian Obat Tradisional) UGM Yogyakarta.

Bahan dan alat

Dalam penelitian ini digunakan 60 mencit putih (*Mus musculus* L.) jantan *strain swiss webster* dengan umur 2-3 bulan dan berat badan 20-30 gram. Bahan percobaan berupa umbi teki, etanol 95% dan CMC 1%. Asam asetat 3% yang dilarutkan dalam NaCl 0,9% sebagai Induksi nyeri secara kimiawi, sedangkan sebagai pembanding analgetik digunakan asetosal 200 mg/kg bb yang disuspensikan dalam CMC 1%.

Alat-alat yang digunakan meliputi timbangan analitik, pisau, corong Buchner, inkubator, ayakan, blender, gelas ukur, pipet ukur, *Rotary evaporator*, kertas saring, kandang pengamatan, *stopwatch*, *canule*, *sputit*, *hot plate* yang dilengkapi dengan beker gelas dan *water bath* serta termometer.

Cara kerja

Rancangan percobaan

Penelitian ini menggunakan rancangan percobaan yang berupa Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan enam macam perlakuan, masing-masing perlakuan lima ulangan.

Persiapan hewan uji

Sebelum perlakuan, mencit putih jantan diadaptasikan terhadap lingkungan dan makanan selama 1 minggu dan sebelum pemberian bahan uji secara oral, mencit putih jantan dipuasakan 18 jam dengan tetap diberi minum.

Pembuatan ekstrak umbi teki

Umbi teki dibersihkan dan langsung dikeringkan dalam inkubator dengan suhu 37°C selama 24 jam. Setelah kering, umbi teki tersebut dipotong kecil-kecil dan diserbuk, kemudian diekstrak dengan etanol 95% selama 30 menit. Setelah itu dimaserasi dalam etanol 95% selama 24 jam, lalu difiltrasi dengan corong Buchner dan diperoleh filtrat. Filtrat yang diperoleh tersebut dievaporasi dengan *rotary evaporator* dengan suhu 40°C dan tekanan vakum dan diperoleh ekstrak kental sampai tidak menetes. Untuk uji aktivitas, ekstrak kental dengan konsentrasi 20 b/v tersebut disuspensikan dalam larutan CMC 1% (Suganda dan Ozaki, 1996; Kardoko dan Eleison, 1999).

Pembuatan larutan

Ekstrak umbi teki dibuat larutan percobaan dengan dosis bervariasi yaitu 0 mg/20 g bb (kontrol); 1 mg/20 g bb; 3 mg/20 g bb, 5 mg/20 g bb dan 7 mg/20 g bb yang disuspensikan dalam larutan CMC 1% sebanyak 0,5 ml/20 g bb. Dosis yang digunakan dalam percobaan berdasarkan harga LD 50 ekstrak etanol herba teki pada mencit secara intraperitoneal yaitu 1500 mg/kg bb (Sudarsono dkk., 1996). Asam asetat 3% yang dilarutkan dalam NaCl 0,9% dan diberikan sebanyak 0,1 ml/20 g bb sebagai induksi nyeri cara kimiawi. Pembanding yang digunakan adalah asetosal dosis 200 mg/kg

bb yang disuspensikan dalam CMC 1% (Sumardiyanta, 1999).

Perlakuan terhadap hewan uji

Penelitian ini terdiri dari 2 metode yaitu induksi nyeri cara kimiawi dan cara termik. Masing-masing metode menggunakan 30 mencit putih (*Mus musculus* L.) jantan yang terbagi dalam 6 kelompok perlakuan, dengan masing-masing kelompok terdiri dari 5 mencit sebagai ulangan.

Metode induksi nyeri cara kimiawi. Induksi rasa nyeri secara kimiawi digunakan asam asetat 3% yang dilarutkan dalam NaCl 0,9% dengan cara disuntikkan secara intraperitoneal yang diberikan 30 menit setelah pemberian bahan uji secara oral (Turner, 1965). Nyeri ditandai dengan timbulnya *writhing* atau geliat yang ditunjukkan dengan bagian abdomen menyentuh dasar tempat berpijak dan kedua pasang kaki ditarik ke belakang (Astuti dan Pudjiastuti, 1996). Tiap kelompok mendapat perlakuan sebagai berikut Kelompok I diberi ekstrak umbi teki dosis 0 mg/20 g bb; Kelompok II diberi ekstrak umbi teki dosis 1 mg/20g bb; Kelompok III diberi ekstrak umbi teki dosis 3 mg/20 g bb; Kelompok IV diberi ekstrak umbi teki dosis 5 mg/20g bb; Kelompok V diberi ekstrak umbi teki dosis 7 mg/20 g bb; Kelompok VI diberi asetosal 200 mg/kg bb; semua kelompok sebanyak 0,5 ml/20 g bb.

Daya analgetik dan efektifitas analgetik. Bahan uji diberikan secara oral, 30 menit sebelum disuntikkan asam asetat. Pengamatan dilakukan pada mencit dengan melihat jumlah geliat yang timbul langsung setelah pemberian asam asetat selama 30 menit dengan selang waktu 5 menit. Efek analgetik bahan yang diuji dapat dilihat dengan adanya penekanan jumlah geliat yang timbul selama 30 menit dibandingkan dengan asetosal (Astuti dan Pudjiastuti, 1996).

Metode induksi nyeri cara termik. Induksi nyeri cara termik ini dilakukan dengan menempatkan mencit di atas pelat panas dengan suhu tetap yaitu 55 °C sebagai stimulus nyeri dan mencit akan memberikan respon dalam bentuk menjilat kaki belakang atau meloncat. Selang waktu antara pemberian stimulus nyeri dan terjadinya respon disebut waktu reaksi. Waktu reaksi ini dapat diperpanjang oleh obat-obat analgetik. Perpanjangan waktu reaksi ini selanjutnya dapat dijadikan sebagai ukuran dalam mengevaluasi aktivitas analgetik (Turner, 1965; Sirait dkk., 1993). Tiap kelompok mendapat perlakuan seperti pada induksi nyeri cara kimiawi.

$$\% \text{Daya analgetik} = 100 - \left(\frac{\text{Rata - rata jumlah geliat kelompok perlakuan}}{\text{Rata - rata jumlah geliat kelompok kontrol}} \times 100\% \right) \quad (\text{Turner, 1965})$$

$$\% \text{Efektifitas analgetik} = \left(\frac{\text{Rata - rata daya analgetik kelompok perlakuan}}{\text{Rata - rata daya analgetik kelompok asetosal}} \times 100\% \right) \quad (\text{Pudjiastuti dkk., 2000})$$

Setelah pemberian bahan uji secara oral, mencit dibiarkan selama 15 menit untuk memberi kesempatan agar bahan uji dapat terdistribusi secara merata di dalam tubuh, selanjutnya tiap mencit diletakkan di atas pelat panas dengan suhu 55°C dan tepat pada waktu di atas pelat panas, *stopwatch* dihidupkan dan sebagai patokan, bahwa mencit mulai merasakan nyeri pada waktu menjilat kaki belakang, karena menjilat kaki depan adalah hal normal untuk mencit dan pada saat itu *stopwatch* dimatikan, kemudian mencit diangkat dari pelat panas. Waktu reaksi mencit terhadap bahan uji dicatat dan dibandingkan dengan asetosal (Turner, 1965; Sumardiyanta, 1999).

Analisis data

Data yang diperoleh dianalisis dengan menggunakan Analisis Varians (ANOVA) dan apabila terdapat beda nyata antar perlakuan dilanjutkan dengan uji LSD (*Least Square Difference*) pada taraf signifikansi 1%.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Induksi nyeri cara kimiawi

Jumlah geliat rata-rata pada mencit putih jantan yang diberi ekstrak umbi teki dan asam asetat selama 30 menit pada setiap kelompok berbeda. Hasil selengkapnya dari penelitian ini terlihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Jumlah geliat rata-rata pada mencit putih jantan yang diberi ekstrak umbi teki dan asam asetat selama 30 menit.

Dosis perlakuan per 20 g bb	Jumlah geliat rata-rata $\pm$ SE
I. Ekstrak teki 0 mg	15,79 $\pm$ 1,78 ^a
II. Ekstrak teki 1 mg	13,49 $\pm$ 1,49 ^{ac}
III. Ekstrak teki 3 mg	11,06 $\pm$ 0,56 ^{bce}
IV. Ekstrak teki 5 mg	9,12 $\pm$ 0,69 ^{bde}
V. Ekstrak teki 7 mg	5,93 $\pm$ 0,37 ^{bdf}
VI. Asetosal 4 mg	2,29 $\pm$ 0,91 ^{bdf}

Keterangan: angka yang diikuti huruf yang sama menunjukkan tidak beda nyata. a dan b: perbandingan kelompok kontrol dengan semua kelompok perlakuan. c dan d: perbandingan kelompok II dengan kelompok III, IV, V, VI. e dan f: perbandingan kelompok III dengan kelompok IV, V, VI.

Tabel 1. menunjukkan adanya pengurangan jumlah geliat setelah pemberian ekstrak umbi teki dengan dosis yang meningkat, sedang kelompok asetosal mempunyai rata-rata jumlah geliat terendah dibanding kelompok bahan uji lainnya. Jadi semakin tinggi dosis ekstrak umbi teki yang diberikan, cenderung mengurangi jumlah geliat, sehingga dapat menghambat rasa nyeri dan mempunyai efek analgetik.

Menurut Sirait dkk. (1993), adanya aktivitas analgetik dalam bahan uji ditunjukkan dengan jumlah geliat yang lebih sedikit sampai lebih dari 50% dibanding kelompok kontrol. Ekstrak umbi teki dosis 7 mg/20 g bb menunjukkan adanya jumlah

geliat yang lebih sedikit sampai lebih dari 50% dibanding kelompok kontrol. Jadi ekstrak umbi teki dosis 7 mg/20 g bb menunjukkan adanya aktivitas analgetik dalam umbi teki.

Tabel 2. Persentase daya analgetik.

Dosis perlakuan per 20 g bb	Jumlah geliat rata-rata	Daya analgetik (%)
Ekstrak teki 1 mg	13,49	14,57
Ekstrak teki 3 mg	11,06	29,96
Ekstrak teki 5 mg	9,12	42,24
Ekstrak teki 7 mg	5,93	62,44
Asetosal 4 mg	2,29	85,5

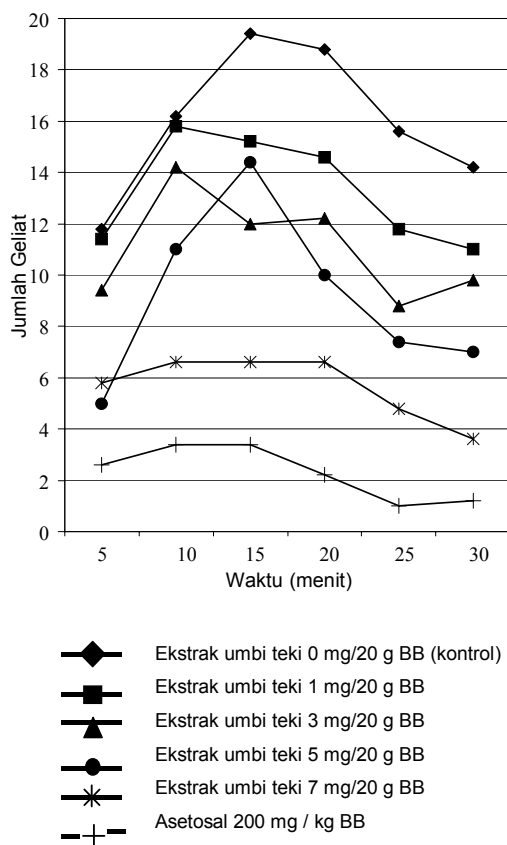
Tabel 2. menunjukkan bahwa persentase daya analgetik untuk mengetahui besarnya kemampuan dari ekstrak umbi teki dalam mengurangi rasa nyeri kelompok kontrol. Persentase daya analgetik ini selanjutnya dapat dijadikan dasar untuk perhitungan persentase efektifitas analgetik. Persentase daya analgetik yang dibandingkan dengan kontrol terlihat bahwa makin besar dosis ekstrak umbi teki yang diberikan, maka makin besar daya analgetiknya. Asetosal mempunyai persentase daya analgetik tertinggi. Ekstrak umbi teki 7 mg/20 g bb mempunyai persentase daya analgetik lebih tinggi dibanding ketiga dosis lainnya. Persentase daya analgetik kelompok perlakuan terhadap kontrol berbanding terbalik dengan jumlah kumulatif geliat, berarti pada jumlah geliat besar akan memberikan persentase daya analgetik yang kecil dan sebaliknya, karena semakin banyak zat aktifnya, maka akan meningkatkan kemampuan ekstrak untuk menghambat nyeri (Kardoko dan Eleison, 1999).

Persentase efektivitas analgetik berguna untuk mengetahui keefektifan ekstrak umbi teki dalam berbagai dosis yang diduga dapat bermanfaat sebagai obat analgetik dan dibandingkan dengan asetosal karena asetosal sudah terbukti sebagai obat analgetik yang dianggap paling efektif dalam menanggulangi rasa nyeri. Pada Tabel 3. menunjukkan bahwa semakin besar dosis ekstrak umbi teki yang diberikan, maka makin tinggi pula efektifitas analgetiknya. Dosis 7 mg/20 g bb memiliki efektifitas analgetik tertinggi yang berarti bahwa ekstrak umbi teki dosis 7 mg/20 g bb sangat efektif dalam mengurangi rasa nyeri yang disebabkan oleh asam asetat. Jadi, dari daya analgetik dan efektifitas analgetiknya dapat diketahui bahwa dosis ekstrak umbi teki yang paling berpengaruh nyata dalam mengurangi jumlah geliat adalah dosis 7 mg/20 g bb yang potensinya tidak berbeda dengan asetosal 200 mg/kg bb.

Tabel 3. Persentase efektifitas analgetik.

Dosis perlakuan per 20g b	Efektifitas analgetik (%)
Ekstrak teki 1 mg	17,04
Ekstrak teki 3 mg	35,04
Ekstrak teki 5 mg	49,40
Ekstrak teki 7 mg	73,03

Jumlah geliat rata-rata selama 30 menit dengan rentang waktu 5 menit pada mencit putih dapat dibuat grafik untuk membandingkan jumlah geliat kelompok kontrol dengan kelompok yang telah diberi ekstrak umbi teki. Gambar 1. menunjukkan bahwa mencit sudah mengalami geliat pada 5 menit pertama akibat pemberian asam asetat yang berbeda untuk tiap kelompok perlakuan, keadaan ini menunjukkan adanya perbedaan efek analgetik dari ekstrak umbi teki dalam berbagai dosis. Jumlah geliat pada kelompok asetosal terkecil yang berarti adanya efek analgetik terbesar, sedangkan pada kelompok ekstrak umbi teki, efek analgetiknya lebih kecil daripada asetosal. Ekstrak umbi teki 7 mg/20 g bb lebih baik potensinya dalam mengurangi jumlah geliat kelompok kontrol dibanding ketiga dosis ekstrak umbi teki lainnya yang berarti dapat mengurangi rasa nyeri kelompok kontrol. Pada kelompok ekstrak umbi teki 7 mg/20 g bb dan asetosal 200 mg/kg bb memperlihatkan grafik yang hampir sama. Pengurangan jumlah geliat akan semakin besar sejalan dengan makin tingginya dosis ekstrak umbi teki yang diberikan.



Gambar 1. Jumlah geliat rata-rata pada mencit putih jantan yang diberi ekstrak umbi teki dan asam asetat selama 30 menit

Induksi nyeri cara termik

Tabel 4. menunjukkan bahwa pada pemberian ekstrak umbi teki cenderung mampu memperpanjang waktu reaksi mencit terhadap pelat panas dibandingkan dengan kontrol. Hal ini ditunjukkan

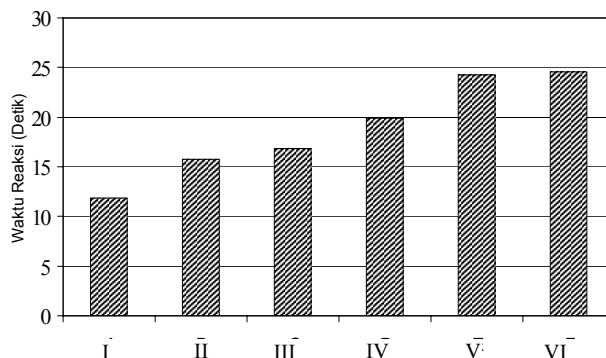
dengan tingginya dosis ekstrak umbi teki yang diberikan pada hewan uji maka semakin panjang waktu reaksinya. Waktu reaksi ekstrak umbi teki dosis 7 mg/20 g bb sama dengan asetosal. Hal ini berarti bahwa potensi analgetik ekstrak umbi teki dosis 7 mg/20 g bb sama dengan asetosal 200 mg/kg bb dalam mengurangi rasa nyeri pada mencit yang disebabkan oleh pelat panas. Dari uji LSD dapat diketahui bahwa ekstrak umbi teki dosis 7 mg/20 g bb mempunyai waktu reaksi yang tidak berbeda dengan asetosal 200 mg/kg bb yang berarti bahwa dosis 7 mg/20 g bb merupakan dosis yang paling berpengaruh nyata dalam memperpanjang waktu reaksi mencit sehingga dapat berfungsi sebagai analgetik.

Tabel 4. Waktu reaksi rata-rata mencit terhadap pelat panas dengan suhu 55°C yang diukur 15 menit setelah perlakuan.

Dosis perlakuan per 20 g bb	Waktu reaksi rata-rata $\pm$ SE
I. Ekstrak teki 0 mg	11,88 $\pm$ 1,18 ^a
II. Ekstrak teki 1 mg	15,74 $\pm$ 0,81 ^{ac}
III. Ekstrak teki 3 mg	16,82 $\pm$ 1,92 ^{ac}
IV. Ekstrak teki 5 mg	19,93 $\pm$ 0,64 ^{bc}
V. Ekstrak teki 7 mg	24,29 $\pm$ 1,86 ^{bd}
VI. Asetosal 4 mg	24,55 $\pm$ 3,57 ^{bd}

Keterangan: angka yang diikuti huruf yang sama menunjukkan tidak beda nyata. a dan b: Perbandingan kelompok kontrol dengan semua kelompok perlakuan. c dan d: Perbandingan kelompok II, III dengan kelompok IV, V, VI.

Makin besar dosis ekstrak umbi teki, maka makin tinggi daya tahan mencit terhadap rasa nyeri yang ditimbulkan oleh rangsang panas dari *hot plate*. Hal ini berarti makin besar dosis ekstrak umbi teki, makin besar efek pengurang rasa nyeri. Pemberian ekstrak umbi teki terbukti dapat memperpanjang waktu reaksi kelompok kontrol yang berarti bahwa ekstrak umbi teki tersebut memiliki aktivitas analgetik (Sirait dkk., 1993).



Gambar 2. Waktu reaksi rata-rata mencit putih jantan terhadap pelat panas dengan suhu 55°C yang diukur 15 menit setelah perlakuan.

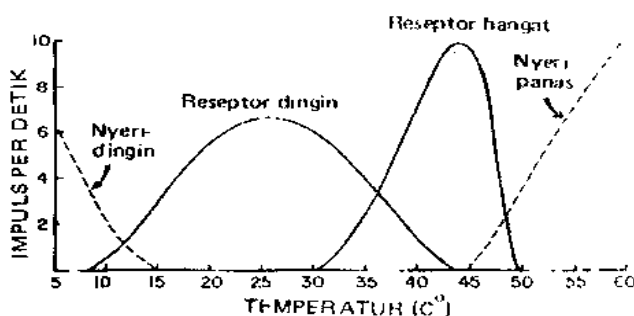
- I. Ekstrak umbi teki 0 mg/20 g bb (kontrol)
- II. Ekstrak umbi teki 1 mg/20 g bb
- III. Ekstrak umbi teki 3 mg/20 g bb
- IV. Ekstrak umbi teki 5 mg/20 g bb
- V. Ekstrak umbi teki 7 mg/20 g bb
- VI. Asetosal 200 mg/Kg bb.

Gambar 2. menunjukkan bahwa ekstrak umbi teki memberikan hasil lebih tinggi dari kelompok kontrol. Hal ini berarti bahwa semakin tinggi dosis, maka semakin besar pula efeknya dalam memperpanjang waktu reaksi kelompok kontrol dan dapat menghambat rasa nyeri mencit akibat rangsang panas. Ekstrak umbi teki dosis 7 mg/20 g bb terlihat hasil paling tinggi dan tidak berbeda dengan asetosal 200 mg/kg bb dalam mengurangi rasa nyeri.

Respon nyeri setelah induksi cara termik pada mencit ditunjukkan dalam bentuk menjilat kaki belakang, termasuk ke dalam nyeri kedua yang reseptornya terletak di kulit dan mediator nyeri yang spesifik untuk nyeri ini adalah prostaglandin. Parameter yang diukur pada induksi nyeri cara termik ini adalah waktu reaksi yaitu selang waktu antara pemberian stimulus nyeri sampai terjadinya respon. Waktu reaksi ini dapat diperpanjang oleh obat-obat analgetik. Perpanjangan waktu reaksi ini dapat dijadikan ukuran dalam mengevaluasi aktivitas analgetik (Turner, 1965; Sirait dkk., 1993).

Induksi nyeri secara termik dalam penelitian ini menggunakan suhu konstan yaitu 55°C, karena suhu kritis rata-rata sebesar 45°C saat seseorang mulai merasakan sakit dan reseptor panas mempunyai respon terhadap suhu 30-45 °C, suhu di atas 45 °C mulai terjadi kerusakan jaringan akibat panas dan sensasinya berubah menjadi nyeri. Jadi, rasa nyeri yang disebabkan oleh panas sangat erat hubungannya dengan kemampuan panas untuk merusak jaringan (Turner, 1965; Guyton, 1994; Ganong, 1999). Nyeri ini disebabkan oleh stimulus panas yang merangsang reseptor nyeri yang sensitif terhadap suhu panas atau dingin yang ekstrim yaitu reseptor nyeri termosensitif. Reseptor nyeri ini meneruskan nyeri kedua melalui serabut jenis C yang tak bermielin (Mutschler, 1991; Guyton, 1994).

Tingkatan suhu dibedakan menjadi 3 jenis organ akhir sensoris yaitu reseptor dingin, reseptor hangat dan dua subtipe reseptor nyeri yaitu reseptor nyeri dingin dan reseptor nyeri panas. Dua jenis reseptor nyeri hanya dirangsang oleh panas atau dingin dalam derajat yang ekstrim sehingga bertanggungjawab bersama dengan reseptor dingin dan hangat untuk sensasi dingin yang membekukan atau panas yang membakar (Guyton, 1995).



Gambar 3. Rentang suhu (1) serabut nyeri dingin, (2) serabut dingin, (3) serabut hangat dan (4) serabut nyeri panas (Guyton, 1995).

Gambar 3. melukiskan efek berbagai suhu atas respon empat jenis serabut saraf yaitu serabut nyeri dingin, serabut dingin, serabut hangat dan serabut nyeri panas. Pada suhu di atas 10-15°C, serabut nyeri dingin yang terangsang dan di atas kira-kira 30°C serabut nyeri hangat menjadi terangsang, sedangkan serabut nyeri dingin menghilang pada kira-kira 43°C. Akhirnya sekitar 45 °C serabut nyeri panas juga mulai terangsang (Guyton, 1994; Guyton, 1995).

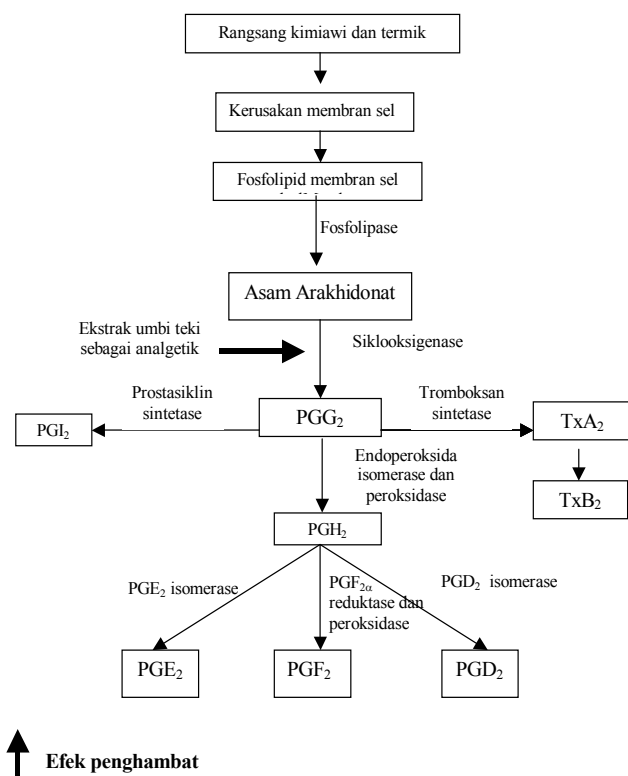
Rasa nyeri merupakan salah satu mekanisme untuk melindungi tubuh terhadap suatu bahaya karena adanya gangguan dalam tubuh seperti peradangan, infeksi jasad renik dan kejang otot. Pada keadaan ini, obat analgetik sering digunakan untuk mengurangi rasa nyeri seperti sakit kepala, sakit gigi dan nyeri otot (Hariyadi, 1989 dalam Astuti dan Pudjiastuti, 1996; Guyton, 1994; Tjay dan Rahardja, 2002).

Teki terutama umbinya merupakan salah satu tanaman obat yang dapat digunakan untuk mengurangi rasa nyeri (Sudarsono dkk., 1996). Umbi teki mempunyai kandungan kimia berupa minyak atsiri, alkaloid, flavonoid, polifenol, resin, amilum, tanin, triterpen, d-glukosa, d-fruktosa dan gula tak mereduksi (Murnah, 1995; Sudarsono dkk., 1996). Kandungan minyak atsiri umbi teki sebesar 0,43% dalam 25 gram berat kering umbi teki (Hellyana, 1997). Fungsi minyak atsiri bagi manusia antara lain sebagai bahan campuran obat sakit gigi, obat gosok, antiseptik, bahan wangi-wangian dan analgetik (Turner, 1965).

Khasiat umbi teki sebagai analgetik, kemungkinan karena kandungan minyak atsirinya yang cukup besar. Hal ini juga didukung oleh beberapa penelitian yang telah dilakukan yaitu tentang khasiat minyak atsiri kencur sebagai analgetik (Hariyadi, 1989 dalam Astuti dan Pudjiastuti, 1996) dan oleh Winarno dkk. (1996) yang hasilnya adalah bahwa minyak atsiri kencur dapat memberikan efek analgetik pada konsentrasi 3,45%; 6,9%; 13,8%; 27,6% dengan metode geliat pada mencit, sedangkan dengan metode termik didapat bahwa minyak atsiri dengan konsentrasi 13,8% dan 27,6% menunjukkan adanya kenaikan nilai ambang nyeri. Meskipun demikian, tidak tertutup kemungkinan efek analgetik dari ekstrak umbi teki ini karena adanya interaksi efek dari kandungan kimia yang lain seperti flavonoidnya dan hal ini telah dibuktikan dari penelitian yang dilakukan oleh Nurdiana dkk. (2000) menggunakan ekstrak kasar dan ekstrak flavonoid daun wungu pada tikus yang menyatakan bahwa salah satu kandungan daun wungu yang diduga mempunyai efek analgetik adalah flavonoidnya, sedangkan efek analgetik ekstrak kasar lebih kuat daripada ekstrak flavonoidnya. Efek analgetik yang lebih kuat ini diduga karena ada kandungan kimia lain di dalam ekstrak kasar ini yang mempunyai efek analgetik. Laporan penelitian dari Purwaningsih (1999) dalam Nurdiana dkk. (2000) menyebutkan bahwa ekstrak alkaloid daun wungu mempunyai efek analgetik pada tikus. Penelitian yang dilakukan oleh Pudjiastuti dkk. (1996) tentang efek analgetik daun

sembung didapatkan hasil bahwa kandungan senyawa terpenya bersifat analgetik. Jadi, khasiat umbi teki sebagai analgetik karena kandungan senyawa-senyawa kimia yang ada di dalamnya yaitu minyak atsiri, flavonoid dan triterpen. Salah satu sifat minyak atsiri dan terpen dapat digunakan sebagai analgetik (Trease dan Evans, 1978).

Prostaglandin merupakan mediator nyeri yang spesifik untuk nyeri yang berlangsung lama yaitu nyeri kedua dan nyeri viseral. Respon nyeri geliat termasuk dalam nyeri viseral dan menjilat kaki belakang termasuk ke dalam nyeri kedua dengan pembebasan prostaglandin sebagai mediator nyerinya, sehingga dengan menghambat sintesis prostaglandin diharapkan dapat mengurangi rasa nyeri melalui pengurangan jumlah geliat dan perpanjangan waktu reaksi untuk meningkatkan daya tahan hewan uji terhadap rangasang nyeri (kenaikan nilai ambang nyeri) (Mutschler, 1991; Guyton, 1994).



Gambar 4. Penghambatan sintesis prostaglandin oleh ekstrak umbi teki (Mcgiff, 1983; Schunack dkk., 1990; Mutschler, 1991; Nogrady, 1992; Tjay dan Rahardja, 2002).

Berdasarkan manfaat umbi teki yang berfungsi juga sebagai antipiretik dan dapat menyembuhkan pembengkakan, maka ekstrak umbi teki sebagai analgetik diduga bekerja di perifer dengan mekanisme kerja menghambat biosintesis prostaglandin. Biosintesis prostaglandin dimulai dari rangsang yang berupa kimiawi dan termik menyebabkan kerusakan membran sel, sehingga enzim fosfolipase diaktifkan untuk mengubah

fosfolipid dalam membran sel menjadi asam arakhidonat dan selanjutnya disiklisisasi menjadi prostaglandin endoperoxida siklik dalam bentuk PGG_2 (satu rantai peroksida) yang merupakan prazat untuk pembentukan semua senyawa prostaglandin dengan bantuan enzim siklooksigenase. Peroksida dari PGG_2 ini melepaskan radikal bebas oksigen yang juga berperan pada timbulnya rasa nyeri. Dari PGG_2 diubah menjadi PGH_2 (satu rantai samping hidroksil) dengan bantuan enzim endoperoxida isomerase dan peroksidase. Dari PGH_2 ini akan dibentuk secara langsung prostaglandin primer yaitu PGE_2 , $\text{PGF}_{2\alpha}$ dan PGD_2 . Perubahan PGH_2 menjadi PGE_2 dibantu oleh enzim PGE_2 isomerase. Enzim $\text{PGF}_{2\alpha}$ reduktase dan peroksidase mengkatalisis perubahan PGH_2 menjadi $\text{PGF}_{2\alpha}$ dan enzim PGD_2 isomerase mengubah PGH_2 menjadi PGD_2 . Dari PGE terbentuk prostaglandin A, C dan B. Dalam trombosit, PGG_2 dapat diubah menjadi tromboksan A_2 oleh tromboksan sintetase. Tromboksan A_2 yang tidak stabil diubah menjadi tromboksan B_2 yang stabil dan tidak aktif. Zat lain yang terbentuk dari PGG_2 adalah prostasiklin (PGI_2) yang disintesis di dinding pembuluh darah dengan bantuan enzim prostasiklin sintetase (Gambar 4) (Mcgiff, 1983; Schunack dkk., 1990; Mutschler, 1991; Nogrady, 1992; Tjay dan Rahardja, 2002). Mekanisme kerja ekstrak umbi teki diduga melalui hambatan siklo-oksigenase, sehingga menyebabkan asam arakhidonat tidak berubah menjadi prostaglandin endoperoxida siklik. Prostaglandin endoperoxida siklik merupakan prazat semua prostaglandin, oleh karena itu bila senyawa itu tidak terbentuk, maka sintesis prostaglandin terhenti (Mutschler, 1991; Nogrady, 1992; Tjay dan Rahardja, 2002).

KESIMPULAN

Dari hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa ekstrak umbi teki dapat mengurangi jumlah geliat pada mencit setelah induksi nyeri cara kimiawi; ekstrak umbi teki dapat memperpanjang waktu reaksi mencit setelah induksi nyeri cara termik; ekstrak umbi teki dosis 7 mg/20 g bb dapat berpengaruh nyata dalam mengurangi jumlah geliat mencit setelah induksi nyeri cara kimiawi dan memperpanjang waktu reaksi mencit setelah induksi nyeri cara termik; ekstrak umbi teki dosis 7 mg/20 g bb mempunyai efek analgetik yang paling efektif yaitu tak berbeda dengan asetosal 200 mg/kg bb. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut ke arah fitofarmaka untuk mengetahui kandungan kimia yang berkhasiat sebagai analgetik, identifikasi serta isolasinya.

DAFTAR PUSTAKA

- Astuti, N dan Pudjiastuti. 1996. Penelitian khasiat biji ketumbar (*Coriandrum sativum* L.) sebagai analgesik pada mencit. *Prosiding Simposium Penelitian Bahan Obat Alami VIII*. Bogor: Badan Penelitian Tanaman

- Rempah dan Obat (BALITTRO) dengan Perhimpunan Peneliti Bahan Obat Alami (PERHIPBA).
- Ganong, W.F. 1999. *Buku Ajar Fisiologi Kedokteran*. Penerjemah: Kusumah, J.W.. Jakarta: EGC.
- Guyton, A.C. 1994. *Buku Ajar Fisiologi Kedokteran*. Penerjemah: Tengadi, K.A. Jakarta: EGC.
- Guyton, A.C. 1995. *Fisiologi Manusia dan Mekanisme Penyakit*. Penerjemah: Andrianto, P. Jakarta: EGC.
- Hargono, D. 1997. Obat Tradisional dalam Zaman Teknologi. *Majalah Kesehatan Masyarakat* 56: 3-5.
- Hellyana, R.H. 1997. Aktivitas Antimikrobia Minyak Atsiri Buah Kemukus dan Umbi Rumput Teki terhadap **Pseudomonas solanacearum**, **Xanthomonas oryzae**, **Alternaria porri**, **Fusarium batatis Secara in Vitro**. [Skripsi]. Yogyakarta: Fakultas Farmasi UGM.
- Hite, G. H. 1995. *Analgetika dalam Prinsip-Prinsip Kimia Medisinal*. Penerjemah: Rasyid, R., K. Firman, H.T. Suwarno, dan A. Musadad. Yogyakarta: UGM Press.
- Kardoko, H dan M. Eleison. 1999. Pemanfaatan ekstrak buah kemukus (**Piper cubeba** L.F) sebagai analgetika. *Buletin Penalaran Mahasiswa UGM* 6 (1): 9-11.
- Katzung, B. 1995. *Farmakologi Dasar dan Klinik*. Jakarta: EGC.
- Mcgiff, J.C. 1983. *Prostaglandin, Prostacyclin and Thromboxanes in Essentials of Pharmacology*. Philadelphia: Harper and Row Publishers.
- Murnah. 1995. Pemeriksaan kualitatif dan kuantitatif minyak atsiri dan tannin dalam umbi teki. *Jurnal Kedokteran Diponegoro* 30 (3 dan 4): 234-238.
- Mutschler, E. 1991. *Dinamika Obat: Buku Ajar Farmakologi dan Toksikologi*. Penerjemah: Widiyanto, M. dan A.S. Kanti. Bandung: ITB.
- Nogady, T. 1992. *Kimia Medisinal*. Penerjemah: Rasyid, R. dan Musadad, A. Bandung: ITB.
- Nurdiana; Kirana, C; Arifatin, R dan Mulyohadi. 2000. Uji efek analgesik ekstrak kasar dan ekstrak flavonoid daun wungu (**Graftophyllum pictum** Grift) pada tikus (**Rattus rattus** Wister). *Jurnal Kedokteran Yarsi* 8 (2): 56-57.
- Pudjiastuti, B., Dzulkarnain, dan Y. Astuti. 1996. Uji analgetik infus daun sembung (**Blumea Balsamifera** DC.) pada mencit putih. *Cermin Dunia Kedokteran* 28: 34-36.
- Pudjiastuti, B., Dzulkarnain, dan B. Nuratmi. 2000. Uji analgetik infus rimpang lempuyang pahit (**Zingiber amaranicus** BL.) pada mencit putih. *Cermin Dunia Kedokteran* 129: 39-41.
- Satyanegara, M.D. 1978. *Teori dan Terapi Nyeri*. Jakarta: Pantja Simpati.
- Schunack, W., M. Mayer, dan M. Haake. 1990. *Senyawa Obat*. Penerjemah: Wattimena, J.R. dan S. Soebito. Yogyakarta: UGM Press.
- Sirait, M.D., D. Hargono, J.R. Wattimena, M. Husin, R.S. Sumadilaga, dan S.O. Santoso. 1993. *Pedoman Pengujian Dan Pengembangan Fitofarmaka, Penapisan Farmakologi, Pengujian Fitokimia dan Pengujian Klinik Pengembangan dan Pemanfaatan Obat Bahan Alam*. Jakarta: Yayasan Pengembangan Obat Bahan Alam Phytomedica.
- Siswandono dan Soekardjo, B. 1995. *Kimia Medisinal*. Surabaya: Airlangga University Press.
- Sudarsono, A. Pudjiarinto, D. Gunawan, S. Wahyono, I.A. Donatus, M. Dradjad, S. Wibowo, dan Ngatidjan. 1996. *Tumbuhan Obat, Hasil Penelitian, Sifat-Sifat dan Penggunaan*. Yogyakarta: Pusat Penelitian Obat Tradisional (PPOT) UGM.
- Suganda, A.G dan Y. Ozaki. 1996. Efek analgesik ekstrak rimpang empat jenis tanaman Suku Zingiberaceae. *Prosiding Simposium Penelitian Bahan Obat Alami VIII*. Bogor: Badan Penelitian Tanaman Rempah dan Obat (BALITTRO) dengan Perhimpunan Peneliti Bahan Obat Alam (PERHIPPA).
- Sumardiyanta, E. 1999. *Efek Analgetik Infus Umbi Teki Pada Mencit*. [Skripsi]. Yogyakarta: FKH UGM.
- Steenis, C. G. G. J. 1997. *Flora of Java, Flora untuk Sekolah di Indonesia*. Penerjemah: Surjowinoto, M. Jakarta: Pradanya Paramita.
- Tjay, T.H., dan K. Rahardja. 2002. *Obat-Obat Penting: Khasiat, Penggunaan dan Efek-Efek Sampingnya*. Ed. 5. Jakarta: Elex Media Komputindo Kelompok Gramedia.
- Trease, G.E. dan W.C. Evans. 1978. *Pharmacognosy*. London: Billiere Tindall.
- Turner, R.A. 1965. *Screening Methods in Pharmacology*. New York: Academic Press.
- Turner, C.D. dan J.T. Bagnara. 1988. *Endokrinologi Umum*. Penerjemah: Harsojo.. Surabaya: Airlangga University Press.
- Winarno, W., Y. Astuti, dan D. Sundari. 1996. Informasi tentang fitokimia dan efek farmakologi tanaman kencur (**Kaempferia galanga** L.). *Warta Tumbuhan Obat* 3 (2): 48-51.

Potensi Penghambatan Minyak Atsiri dan Ekstrak Kasar Rimpang Lempuyang (*Zingiber* spp.) terhadap Pertumbuhan *Fusarium oxysporum* Schlecht f.sp. *cubense*

Potential inhibition of essential oils and crude extract of Zingiber species to the growth of Fusarium oxysporum Schlecht f.sp. cubense

PURWANTI, SURANTO*, RATNA SETYANINGSIH

Jurusan Biologi FMIPA UNS Surakarta 57126.

*Korespondensi: ssuranto@mipa.uns.ac.id. Tel./Faks. +62-271-663375.

Diterima: 22 Juli 2002. Disetujui: 11 Maret 2003.

Abstract. The aims of this research were (1) to investigate the potency of essential oil and crude extract of rhizome lempuyang pahit (*Zingiber amaricans* Vahl.), lempuyang gajah (*Zingiber zerumbet* L.) and lempuyang wangi (*Zingiber aromaticum* L.) in preventing growth of *F. oxysporum* f.sp. *cubense* (2) to determine the proper concentration of essential oil and crude extract in preventing the growth of *F. oxysporum* f.sp. *cubense*. Essential oil of rhizome *Zingiber* spp. was separated by Stahl distillation with methanol solvent. Crude extract was made by soaking the powder of *Zingiber* spp. in methanol absolute and then filtered by paper disk. Several compounds of rhizome *Z. amaricans* Vahl. were analysed by GC-MS. Potential inhibition of essential oil and crude extract were examined using disk diffusion method at concentration of 1%, 10%, and 100% respectively, while methanol absolute was used as control and Benlate fungicide was used for comparison. The result showed that essential oil and crude extract of *Z. amaricans* Vahl. and *Z. zerumbet* L. were able to inhibit the growth of *F. oxysporum* f.sp. *cubense*. Essential oil *Z. amaricans* Vahl. were also able to inhibit the growth of *F. oxysporum* f.sp. *cubense* at lowest concentration of 1% while the *Z. zerumbet* L. at concentration 10%. Crude extract *Z. amaricans* Vahl. and *Z. zerumbet* L. were able to prevent the growth of *F. oxysporum* f.sp. *cubense* even at concentration of 100%.

Key words: *Zingiber* spp., potential inhibition, *F. oxysporum* f.sp. *cubense*.

PENDAHULUAN

Pisang (*Musa paradisiaca* L.) merupakan buah yang banyak mengandung karbohidrat, vitamin dan mineral. Buah tropis ini cukup populer di Asia Tenggara, bahkan di dunia. Kebijakan pemerintah untuk meningkatkan ekspor nonmigas dan melakukan diversifikasi bahan pangan memberi peluang pengembangan komoditas pisang. Akhir-akhir ini terdapat kecenderungan penanaman pisang secara komersial dan luas, dalam bentuk perkebunan (Widyaningsih dkk., 1998).

Salah satu kendala untuk meningkatkan mutu dan produksi tanaman pisang adalah serangan penyakit cendawan *Fusarium oxysporum* Schlecht f.sp. *cubense* yang menyebabkan penyakit layu pada tanaman pisang. Penyakit ini lebih berbahaya dari pada penyakit-penyakit pisang lainnya seperti virus kerdil (*bunchy top virus*), penyakit layu oleh bakteri *Pseudomonas solanacearum*, dan penyakit darah oleh *Xanthomonas celebensis*, karena sampai sekarang fungisida di pasaran belum mampu mengatasi penyakit yang disebabkan *Fusarium* ini (Soenarjo, 1999). Cendawan patogen ini dapat menurunkan produksi tanaman pisang, baik dalam kuantitas maupun kualitas (Djajati dkk., 1998).

Usaha-usaha untuk mengendalikan penyakit layu *Fusarium* telah banyak dilakukan di antaranya dengan rotasi tanaman tetapi hasilnya kurang

memuaskan dan dengan sterilisasi lahan tetapi pelaksanaannya juga sangat sulit dan mahal untuk kebun skala luas. Penanggulangan penyakit ini termasuk sangat sulit karena terbatasnya varietas tanaman pisang yang tahan. Hingga kini baru diketahui tiga varietas tanaman pisang yang tahan terhadap *Fusarium* yaitu pisang nangka, pisang susu, dan pisang *giant cavendish* (Soenarjo, 1999). Selain ketiga varietas tersebut, semua pisang rentan terhadap penyakit layu *Fusarium*. Oleh karena itu, perlu diupayakan cara alternatif yang dapat digunakan untuk mengatasi penyakit layu *Fusarium* pada tanaman pisang tersebut.

Salah satu cara alternatif yang sedang dikembangkan adalah pemanfaatan minyak atsiri dan ekstrak kasar tumbuhan sebagai bahan antimikroba. Supriadi dkk. (1999) mencatat adanya potensi antibakteri beberapa tanaman rempah dan obat terhadap isolat *Ralstonia solanacearum* yang menyerang tanaman jahe. Hasil penelitian tersebut menunjukkan bahwa minyak atsiri kayu manis (*Cinnamomum zeylanicum*), cengkeh (*Syzygium aromaticum* L.) dan lempuyang gajah (*Zingiber zerumbet* L.) mempunyai efektivitas penghambatan terhadap pertumbuhan *R. solanacearum* pada medium *sucrose peptone agar* (SPA). Dari penelitian tersebut juga ditunjukkan bahwa ekstrak kasar temu kunci (*Boesenbergia pandurata* Roxb.) mempunyai daya antibakteri paling tinggi dibandingkan

dengan ekstrak gambir (*Uncaria gambir*), kunyit (*Curcuma domestica* Val.), dan temu lawak (*C.xanthorrhiza* Roxb.). Lempuyang merupakan salah satu tanaman rempah-rempah penghasil minyak atsiri. Minyak atsiri lempuyang telah banyak digunakan sebagai pestisida nabati oleh para petani. Karena selain mudah didapat, minyak atsiri lempuyang juga lebih murah dibandingkan dengan minyak atsiri lainnya (Kardinan, 2000).

Tujuan dari penelitian ini adalah mengkaji potensi penghambatan minyak atsiri dan ekstrak kasar rimpang lempuyang gajah (*Z. zerumbet* L.), lempuyang pahit (*Z. amaricans* Vahl.), dan lempuyang wangi (*Z. aromaticum* L.) terhadap pertumbuhan cendawan *F. oxysporum* f.sp. *cubense* serta menetapkan konsentrasi minyak atsiri dan ekstrak kasar rimpang lempuyang pahit (*Z. amaricans* Vahl.), lempuyang gajah (*Z. zerumbet* L.) dan lempuyang wangi (*Z. aromaticum* L.) yang tepat untuk menghambat pertumbuhan cendawan *F. oxysporum* f.sp. *cubense*.

BAHAN DAN METODE

Waktu dan tempat penelitian

Penelitian dilaksanakan pada awal bulan Oktober 2001 sampai Februari 2002, di Laboratorium Pusat MIPA UNS Surakarta.

Bahan dan alat

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini meliputi: lempuyang pahit (*Zingiber amaricans* Vahl.), lempuyang gajah (*Z.ingiber zerumbet* L.), lempuyang wangi (*Zingiber aromaticum* L.) masing-masing berumur kurang lebih 12 bulan yang diambil dari kebun produksi air mancur Karangpandan, medium *potato dextrosa agar* (PDA), isolat *Fusarium oxysporum* Schlecht f.sp. *cubense*, metanol, akuades steril, kloramfenikol, *lactophenol cotton blue*, kapas, fungisida Benlate dan alkohol.

Alat yang digunakan adalah: seperangkat alat destilasi Stahl, seperangkat alat kromatografi gas (Hewlet Pacard 5890 Series II), seperangkat alat *gas chromatograph – mass spectrometry* (GCMS) (Shimadzu QP-5000), blender elektrik, kertas saring steril berdiameter 6 mm, inkubator, timbangan elektrik (Mettler Toledo AT 400), *hot plate* (KIKA Labortechnik), mikroskop, kamera mikrofotografi (NIKON ECLIPSE E 400).

Cara kerja

Isolasi *F. oxysporum* f.sp. *cubense*

Cendawan *F. oxysporum* f.sp. *cubense* diisolasi dari tanaman pisang kepok (*Musa paradisiaca* L. var. *nomalis*) yang terserang penyakit layu *Fusarium*. Isolasi dilakukan dengan cara membelah batang semu pisang, lalu koloni cendawan di dalamnya diinokulasi ke medium PDA steril dengan cara memotong batang semu dengan ukuran 2x2 cm, kemudian diletakkan pada cawan petri yang telah dituangi medium PDA steril, yang selanjutnya diinkubasikan selama 4 hari pada suhu 29°C. Koloni-koloni yang tumbuh diidentifikasi untuk

memastikan adanya cendawan *F. oxysporum* f.sp. *cubense*.

Identifikasi *F. oxysporum* f.sp. *cubense*

Identifikasi dilakukan dengan pengamatan secara makroskopis dan mikroskopis. Hasil yang diperoleh dicocokkan dengan buku identifikasi Bessey (1979) dan Gandjar dkk. (1999). Setelah cendawan *F. Oxysporum* f.sp. *cubense* teridentifikasi, selanjutnya ditumbuhkan sebagai biakan murni.

Pembuatan serbuk rimpang lempuyang

Rimpang lempuyang pahit, lempuyang gajah, dan lempuyang wangi dicuci bersih dan diiris tipis dengan ketebalan 2-3 mm, kemudian dijemur di bawah sinar matahari dengan ditutup kain hitam selama 4 hari. Rimpang yang telah kering dibuat serbuk dengan blender elektrik, kemudian disimpan dalam wadah tertutup untuk mengurangi penguapan minyak atsiri. Serbuk akan digunakan untuk membuat minyak atsiri dan ekstrak kasar.

Penyulingan minyak atsiri lempuyang

Sebanyak 50 gram serbuk rimpang lempuyang ditambah 100 ml pelarut metanol absolut kemudian dimasukkan dalam alat destilasi dan dipanaskan selama 6 jam pada suhu 80° C. Hasil destilasi ditampung dalam labu erlenmeyer. Minyak atsiri yang tertampung dipisahkan dari pelarut dengan cara dipanaskan dengan suhu 80° C selama 10 menit. Minyak atsiri yang diperoleh disimpan dalam botol gelap, ditutup rapat dengan alumunium foil dan disimpan pada suhu 4°C.

Pengujian dengan metode difusi cawan (*Disk Diffusion Method*)

Pengujian minyak atsiri rimpang lempuyang. Potongan kertas saring steril berdiameter 6 mm dicelupkan dalam minyak atsiri dengan konsentrasi 100%, 10%, dan 1% dalam metanol absolut. Sebagai kontrol digunakan metanol absolut dan pembanding fungisida Benlate dengan konsentrasi 0,01 g/ 20 ml air (b/v) (Supriadi dkk., 1999). Potongan kertas saring steril berdiameter 6 mm yang telah dicelupkan dalam minyak atsiri kemudian diletakkan pada cawan petri yang telah dituangi medium PDA dan 1 ml suspensi cendawan *F. oxysporum* f.sp. *cubense* (Dalmadiyo, dkk., 2000). Satu cawan diisi dengan lima kertas saring steril yang diletakkan secara terpisah dengan jarak satu sama lain $\pm$ 3 cm. Masing-masing perlakuan ditempatkan dalam inkubator (29°C). Pengamatan penghambatan pertumbuhan cendawan dilakukan dengan cara mengukur diameter zona penghambatan di sekeliling kertas saring. Diameter zona penghambatan merupakan diameter daerah di sekeliling kertas saring yang tidak ditumbuhi cendawan *F. oxysporum* f.sp. *cubense* (Jacquelyn, 1999).

Pengujian ekstrak kasar rimpang lempuyang. Serbuk dari ketiga rimpang lempuyang masing-masing dilarutkan dalam metanol absolut (g bahan/ml metanol), dikocok dan dibiarkan 24 jam. Ekstrak kemudian disaring, diambil filtratnya dan dibuat konsentrasi 100%, 10%, dan 1% dalam

metanol absolut. Sebagai kontrol digunakan metanol absolut dan pembanding fungisida Benlate dengan konsentrasi 0,01 g/ 20 ml air (b/v) (Supriadi dkk., 1999). Potongan kertas saring steril berdiameter 6 mm dicelupkan dalam masing-masing larutan tersebut kemudian diletakkan pada cawan petri yang telah dituangi medium PDA dan 1 ml suspensi cendawan *F. oxysporum* f.sp. *cubense* (Dalmadiyo dkk., 2000). Satu cawan diisi dengan lima kertas saring steril yang diletakkan secara terpisah dengan jarak satu sama lain $\pm$ 3 cm. Masing-masing perlakuan ditempatkan dalam inkubator (29°C). Pengamatan penghambatan pertumbuhan cendawan dilakukan dengan cara mengukur diameter zona penghambatan di sekeliling kertas saring. Diameter zona penghambatan merupakan diameter daerah di sekeliling kertas saring yang tidak ditumbuhi cendawan *F. oxysporum* f.sp. *cubense* (Jacquelyn, 1999). Diameter zona penghambatan yang diperoleh, dihitung luasnya dengan rumus:

$$L = \frac{\pi}{4} (d^2 - c^2) \text{ mm}^2$$

dengan:

L adalah luas zona penghambatan

d adalah diameter zona penghambatan

c adalah diameter kertas cakram

$\pi = 3,14$

Analisis GC minyak atsiri dan ekstrak kasar rimpang lempuyang

Analisis komponen-komponen dalam minyak atsiri dan ekstrak kasar dilakukan dengan metode kromatografi gas (GC). Kondisi operasi pada aparatus GC adalah: jenis kolom: HP5 non polar, panjang kolom: 30 meter, suhu awal kolom: 120°C, waktu awal: 5 menit, kenaikan: 10°C, suhu akhir kolom: 270°C, jenis detektor: FID, suhu detektor: 270°C, suhu injektor: 260°C, gas pembawa: Helium, total flow: 10, split (Kpa): 60, attenuation: 2⁴, kec. kertas: 1 cm/menit, jumlah injeksi: 1 μ l.

Analisis GC-MS minyak atsiri dan ekstrak kasar rimpang lempuyang

Jenis-jenis komponen yang teridentifikasi, dianalisis dengan metode kromatografi gas spektrometri massa (GC-MS). Kondisi operasi aparatus GC-MS adalah: jenis pengion: EI (Elektron Impack), jenis kolom: DB 1, panjang kolom: 30 meter, suhu kolom: 60°C, waktu awal: 5 menit, kenaikan: 10°C, suhu akhir: 280°C, gas pembawa: Helium, split (Kpa): 80, suhu injektor: 290°C, suhu detektor: 290°C.

Identifikasi komponen kimia penyusun minyak atsiri lempuyang

Hasil kromatogram dari minyak atsiri lempuyang yang diketahui mempunyai kemampuan membentuk diameter zona penghambatan yang paling besar selanjutnya diidentifikasi dengan menggunakan alat GC-MS, sehingga dapat diketahui jenis komponen penyusun minyak atsiri lempuyang. Hasil yang diperoleh kemudian dibandingkan dengan kumpulan

spektrometri massa yang terdapat pada bank data *National Institute Standard of Technology* (NIST) Library yang memuat 62.340 senyawa yang diketahui.

Analisis data

Penelitian ini menggunakan rancangan acak lengkap (RAL). Data yang telah diperoleh dianalisis dengan uji F taraf 5% dan 1%, kemudian jika terdapat perbedaan nyata, dilanjutkan dengan *Duncan's multiple range test* (DMRT) taraf 5 % dan 1% (Gomez dan Gomez, 1995).

Data hasil penelitian yang berupa senyawa-senyawa penyusun minyak atsiri dan ekstrak kasar sebanyak 61 senyawa dibuat dalam bentuk biner (0 dan 1). Senyawa yang hadir diberi nilai 1 sedangkan senyawa yang tidak hadir diberi nilai 0. Untuk mengetahui kadar suatu komponen senyawa penyusun minyak atsiri, senyawa yang selalu hadir dengan kadar $\geq$ rata-rata diberi nilai 1 sedangkan yang dibawah rata-rata diberi nilai 0. Selanjutnya untuk mengetahui tingkat kesamaan komponen-komponen senyawa penyusun dibuat dendrogram tingkat kesamaan (indeks similaritas) minyak atsiri dan ekstrak kasar ketiga spesies lempuyang dengan analisis Kluster. Tingkat kesamaan koefisien asosiasi ditentukan secara *unweighted pair group methods by average* (UPGMA) (Sneath dan Sokal, 1973).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Isolat *F. oxysporum* f.sp. *cubense*

Dari tanaman *M. paradisiaca* L. var. *Nomalis* yang terserang penyakit layu *Fusarium* dapat diisolasi dan diidentifikasi cendawan *F. oxysporum* f.sp. *cubense* yang diketahui berdasarkan karakteristik dari cendawan tersebut. Karakteristik cendawan *F. oxysporum* f.sp. *cubense* isolat *M. paradisiaca* var. *nomalis* dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Karakteristik cendawan *F. oxysporum* f.sp. *cubense* isolat *M. paradisiaca* var. *Nomalis*

No	Macam Sifat	Karakteristik Isolat
1.	Warna koloni	merah muda
2.	Miselium	banyak seperti kapas
3.	Warna miselium	putih atau salem
4.	Warna sebalik koloni	kekuningan hingga keunguan
5.	Bentuk spora mikrokonidium makrokonidium klamidospora	agak memanjang seperti bulan sabit semi bulat
6.	Ukuran spora mikrokonidium makrokonidium klamidospora	5,0 x 2,2 μ m 20 x 3,0 μ m diameter 5,0 μ m
7.	Warna klamidospora	hialin
8.	Pembentukan spora mikrokonidium makrokonidium klamidospora	pada hari ke-4 pada hari ke-4 pada hari ke-2

Potensi penghambatan minyak atsiri rimpang lempuyang

Hasil pengujian potensi penghambatan minyak atsiri rimpang lempuyang pahit, lempuyang gajah, dan lempuyang wangi disajikan pada Tabel 2. Hasil pengujian potensi penghambatan dari tiga jenis minyak atsiri lempuyang terhadap cendawan *F. oxysporum* f.sp. *cubense* menunjukkan adanya perbedaan luas zona penghambatan dari masing-masing konsentrasi. Dari hasil DMRT taraf 5% dan 1% terhadap ketiga jenis minyak atsiri, minyak atsiri lempuyang pahit menunjukkan potensi penghambatan yang paling tinggi dibandingkan minyak atsiri lempuyang gajah dan minyak atsiri lempuyang wangi yang ditunjukkan dengan terbentuknya zona penghambatan pada konsentrasi 1%, 10%, dan 100%. Potensi penghambatan minyak atsiri lempuyang gajah tampak pada perlakuan konsentrasi 10% dan 100% sedangkan minyak atsiri lempuyang wangi tidak mampu menghambat pertumbuhan *F. oxysporum* f.sp. *cubense*, ditunjukkan dengan tidak terbentuknya zona penghambatan pada perlakuan baik pada konsentrasi 100%, 10%, maupun 1%.

Potensi penghambatan ekstrak kasar rimpang lempuyang

Hasil pengujian potensi penghambatan ekstrak kasar rimpang lempuyang pahit, lempuyang gajah, dan lempuyang wangi disajikan pada Tabel 3. Dari Tabel tersebut dapat dijelaskan bahwa ekstrak kasar lempuyang pahit dan lempuyang gajah mampu menghambat pertumbuhan *F. oxysporum* f.sp. *cubense* dalam medium PDA, ditunjukkan dengan terbentuknya zona penghambatan pada konsentrasi 100%. Sedangkan ekstrak kasar lempuyang wangi tidak mampu menghambat pertumbuhan *F. oxysporum* f.sp. *cubense* ditunjukkan dengan tidak terbentuknya zona penghambatan pada perlakuan.

Komponen kimia minyak atsiri lempuyang

Hasil kromatografi gas cairan menunjukkan bahwa komponen senyawa penyusun minyak atsiri yang diperoleh secara destilasi kadarnya lebih tinggi dari pada komponen senyawa yang diperoleh tanpa proses destilasi. Hal tersebut disebabkan dengan proses destilasi, komponen senyawa pada minyak atsiri dapat terpisahkan secara sempurna berdasarkan titik didih senyawa tersebut. Sedangkan tanpa proses destilasi yang menghasilkan ekstrak kasar, komponen senyawa pada minyak atsiri tidak dapat terpisahkan secara sempurna karena adanya daya kelarutan minyak atsiri dalam metanol. Metanol mempunyai tingkat

Tabel 2. Potensi penghambatan minyak atsiri rimpang lempuyang pahit, lempuyang gajah dan lempuyang wangi yang ditunjukkan dengan luas zona penghambatan (mm²).

No	Minyak atsiri	Kontrol metanol	Pembanding fungisida	Konsentrasi (%)		
				1	10	100
1.	Lempuyang pahit	0 ^a	0 ^a	40,9945 ^b	93,0661 ^c	311,645 ^d
2.	Lempuyang gajah	0 ^a	0 ^a	0 ^a	41,8667 ^b	199,5644 ^c
3.	Lempuyang wangi	0 ^a	0 ^a	0 ^a	0 ^a	0 ^a

Keterangan: angka diikuti huruf yang sama dalam satu baris menunjukkan tidak beda nyata pada uji DMRT taraf 5 % dan 1 %.

Tabel 3. Potensi penghambatan ekstrak kasar rimpang lempuyang pahit, lempuyang gajah dan lempuyang wangi yang ditunjukkan dengan luas zona penghambatan (mm²).

No	Ekstrak kasar	Kontrol metanol	Pembanding fungisida	Konsentrasi (%)		
				1	10	100
1.	Lempuyang pahit	0	0	0	0	21,98
2.	Lempuyang gajah	0	0	0	0	21,98
3.	Lempuyang wangi	0	0	0	0	0

kepolaran yang hampir sama dengan air (Fessenden dan Fessenden, 1992). Dengan prinsip hidrodifusi, metanol akan berdifusi mengikat molekul-molekul minyak dan mendorongnya dari kelenjar minyak. Tetapi karena tanpa proses destilasi, komponen senyawa minyak atsiri yang dihasilkan pun mempunyai kadar yang lebih sedikit.

Dari hasil kromatografi gas cairan juga ditunjukkan bahwa komponen-komponen senyawa penyusun minyak atsiri terdiri dari senyawa utama dan senyawa khas. Untuk menentukan komponen senyawa utama dan senyawa khas pada minyak atsiri perlu diketahui kadar komponen senyawa penyusun minyak atsiri tersebut. Senyawa utama adalah senyawa yang muncul dengan kadar lebih dari 4% dan senyawa khas adalah senyawa yang muncul dengan kadar kurang dari 4% (Sneath dan Sokal, 1973).

Kadar masing-masing komponen senyawa penyusun minyak atsiri dan ekstrak kasar lempuyang ditunjukkan pada Tabel 4. Dari Tabel 4 didapatkan komponen-komponen senyawa penyusun minyak atsiri lempuyang pahit sebanyak 18 macam komponen, lempuyang gajah sebanyak 8 macam komponen, ekstrak kasar lempuyang pahit sebanyak 6 macam komponen dan ekstrak kasar lempuyang gajah sebanyak 2 macam komponen (data lempuyang wangi tidak tersedia).

Senyawa utama yang menyusun minyak atsiri lempuyang pahit terdiri dari senyawa linalool dengan *retention time* (RT) 5,535 (7,30%), senyawa α -caryophyllene dengan RT 11.301 (4,56%), senyawa pinena dengan RT 13.882 (4,05%) dan senyawa norpinena dengan RT 15.800 (57,1%). Senyawa utama pada minyak atsiri lempuyang gajah yaitu senyawa dengan RT 13.969 (6,54%), senyawa dengan RT 15.965 (68,49%) dan senyawa dengan RT 17.360 (9,21%). Senyawa utama pada ekstrak kasar lempuyang pahit adalah senyawa dengan RT 5.455 (8,38%), senyawa dengan RT 11.171 (7,26%), senyawa dengan RT 13.768 (6,15%), senyawa dengan RT 15.597 (68,72%), dan senyawa dengan RT 20.000

Tabel 4. Kadar komponen senyawa penyusun minyak atsiri dan ekstrak kasar lempuyang (%)

RT	Malp	Malg	Eklp	Eklg
3.408	-	-	-	1,15 *
3.440	-	-	1,79 *	-
3.480	-	-	-	-
3.535	9,86 *	-	-	-
3.614	-	23,23 *	-	-
3.827	-	-	-	-
4.074	-	-	-	-
4.156	-	-	-	-
4.245	1,42	-	-	-
4.394	-	-	-	-
4.775	-	-	-	-
4.913	-	-	-	-
4.987	3,04	-	-	-
5.455	-	-	8,38	-
5.475	-	-	-	-
5.535 (1)	7,30	-	-	-
6.253	-	-	-	-
6.325	1,22	-	-	-
6.539	-	-	-	-
6.715	1,83	-	-	-
8.163	-	-	-	-
11.171	-	-	7,26	-
11.219	-	-	-	-
11.301 (2)	4,56	-	-	-
11.715	-	-	-	-
12.166	-	-	-	-
13.442	-	-	-	-
13.492	1,1	-	-	-
13.555	-	1,42	-	-
13.600	-	-	2,79	-
13.711	2,03	-	-	-
13.768	-	-	6,15	-
13.882 (3)	4,05	-	-	-
13.969	-	6,54	-	-
14.199	3,04	-	-	-
14.290	1,31	-	-	-
14.532	1,52	-	-	-
14.576	-	-	-	-
15.445	-	-	-	5,22
15.587	-	-	-	81,74
15.597	-	-	68,72	-
15.663	-	1,68	-	-
15.688	-	-	-	-
15.800 (4)	57,1	-	-	-
15.863	-	-	-	-
15.965	-	68,49	-	-
16.443	-	-	-	-
16.622	1,12	-	-	-
17.329	1,52	-	-	-
17.360	-	9,21	-	-
18.091	-	-	-	-
18.170	-	-	-	-
18.191	2,03	-	-	-
18.684	-	2,93	-	-
19.991	-	-	-	-
20.000	-	-	6,15	-
20.071 (5)	2,33	-	-	-
20.117	-	3,75	-	-
24.460	-	-	-	-
24.585	2,74	-	-	-
24.633	-	1,12	-	-

Keterangan: *: pelarut (metanol), -: tidak hadir atau < 1% malp = minyak atsiri lempuyang pahit; malg = minyak atsiri lempuyang gajah; eklp = ekstrak kasar lempuyang pahit; eklg = ekstrak kasar lempuyang gajah; (1): linalool, (2): α -caryophyllene, (3): Pinena, (4): Norpinena, (5): 1,2-benzene dicarboxylic acid.

(6,15%). Senyawa utama pada ekstrak kasar lempuyang gajah adalah senyawa dengan RT 15.455 (5,22%) dan senyawa dengan RT 15.587 (81,74%).

Senyawa khas yang menyusun minyak atsiri lempuyang pahit terdiri dari senyawa dengan RT 4.245, RT 4.987, RT 6.325, RT 6.715, RT 13.492, RT 13.711, RT 14.199, RT 14.290, RT 14.532, RT 16.622, RT 17.329, RT 18.191 RT 20.071 dan RT 24.585. Senyawa khas pada minyak atsiri lempuyang gajah adalah senyawa dengan RT 13.555, RT 15.663, RT 18.684, RT 20.117 dan RT 24.633. Senyawa khas pada ekstrak kasar lempuyang pahit adalah senyawa dengan RT 13.600 dan senyawa khas pada ekstrak kasar lempuyang gajah adalah senyawa dengan RT 15.445.

Tingkat persamaan antara komponen-komponen senyawa penyusun minyak atsiri dan ekstrak kasar kedua jenis lempuyang ditentukan dengan indeks similaritas (Tabel 5). Dari Tabel 5 diketahui bahwa nilai indeks similaritas antara minyak atsiri lempuyang pahit dan minyak atsiri lempuyang gajah adalah sebesar 54,09%. Hal tersebut menunjukkan adanya nilai perbedaan sebesar 45,91%. Nilai perbandingan tersebut menunjukkan komponen senyawa penyusun yang khas pada minyak atsiri lempuyang pahit. Diduga senyawa khas tersebut memberikan pengaruh pada uji penghambatan, yaitu minyak atsiri lempuyang pahit mampu membentuk zona penghambatan pada konsentrasi terendah 1%, sedangkan minyak atsiri lempuyang gajah mampu membentuk zona penghambatan pada konsentrasi 10%.

Tabel 5. Indeks similaritas (koefisien persamaan) komponen senyawa penyusun minyak atsiri dan ekstrak kasar dari lempuyang pahit dan lempuyang gajah

	Malp	Malg	Eklp	Eklg
Malp	-	-	-	-
Malg	54,09	-	-	-
Eklp	57,38	73,77	-	-
Eklg	63,93	77,05	83,61	-

Keterangan: malg = minyak atsiri lempuyang gajah; eklp = ekstrak kasar lempuyang pahit; eklg = ekstrak kasar lempuyang gajah.

Nilai indeks similaritas antara minyak atsiri lempuyang pahit dengan ekstrak kasar lempuyang pahit adalah sebesar 57,38% dan nilai indeks similaritas antara minyak atsiri lempuyang pahit dengan ekstrak kasar lempuyang gajah adalah sebesar 63,93%. Masing-masing nilai persamaan tersebut menunjukkan adanya kedekatan hubungan komponen-komponen senyawa penyusun antara minyak atsiri lempuyang pahit dengan ekstrak kasar lempuyang pahit dan ekstrak kasar lempuyang gajah, meskipun dalam uji penghambatan, kemampuan dari ekstrak kasar lempuyang pahit dan ekstrak kasar lempuyang gajah jauh lebih kecil daripada minyak atsiri lempuyang pahit. Hal tersebut disebabkan karena ekstrak kasar lempuyang pahit dan ekstrak kasar lempuyang gajah diperoleh secara perendaman dan tidak

secara destilasi sehingga komponen senyawa aktifnya tidak dapat terpisah secara sempurna.

Dari Tabel 5 diketahui nilai indeks similaritas antara ekstrak kasar lempuyang pahit dan ekstrak kasar lempuyang gajah 83,61%. Nilai tersebut menunjukkan adanya persamaan komponen senyawa penyusun antara ekstrak kasar lempuyang pahit dan ekstrak kasar lempuyang gajah. Adanya kesamaan tersebut sangat berpengaruh pada uji penghambatan, yaitu keduanya sama-sama membentuk zona penghambatan pada konsentrasi ekstrak kasar 100%.

Berdasarkan analisis GCMS, 5 senyawa dengan kandungan terbesar dari minyak atsiri lempuyang pahit disajikan pada Tabel 6, sebagai berikut:

Tabel 6. Komponen kimia penyusun minyak atsiri lempuyang pahit

Puncak	RT	Jenis senyawa penyusun
1	5.817	Linalool
2	11.783	α -caryophyllene
3	13.492	Pinena
4	14.733	Norpinena
5	21.067	1,2-benzene dicarboxylic acid

Hasil yang didapatkan dari spektrometri massa menunjukkan bahwa senyawa-senyawa yang terdeteksi adalah senyawa-senyawa dari golongan monoterpen, sesquiterpen dan senyawa turunan benzen. Senyawa linalool, pinena dan norpinena merupakan senyawa golongan monoterpen dengan jumlah atom C=10. Sedangkan α -caryophyllene merupakan senyawa golongan sesquiterpen dengan jumlah atom C=15. Menurut Knobloch dalam Supriadi dkk. (1999) minyak atsiri umumnya mengandung senyawa golongan monoterpen dan sesquiterpen. Golongan terpen tersebut diketahui mempunyai daya antibakteri dan anticendawan yang kuat.

Selain senyawa-senyawa dari golongan monoterpen dan sesquiterpen, minyak atsiri lempuyang pahit juga mengandung senyawa 1,2-benzene dicarboxylic acid yang merupakan senyawa turunan benzen. Menurut Guenther (1987) ada 4 kelompok senyawa pada minyak atsiri yang menentukan sifat minyak atsiri di antaranya adalah turunan benzen khususnya n-propil benzen. Senyawa n-propil benzen pada minyak atsiri merupakan senyawa yang memberi rasa dan bau wangi pada minyak atsiri.

Mekanisme penghambatan pertumbuhan

F. oxysporum f.sp. cubense

Senyawa utama yang diduga bersifat aktif sebagai anticendawan dalam minyak atsiri lempuyang pahit adalah linalool dan α -caryophyllene. Menurut Sivropolou dalam Yanti dkk. (2000) linalool merupakan senyawa golongan monoterpen yang terbukti bersifat antimikroba. Hasil kromatografi gas cairan menunjukkan senyawa linalool yang terkandung dalam minyak atsiri lempuyang pahit lebih tinggi

dibanding yang terkandung dalam minyak atsiri dan ekstrak kasar lempuyang jenis lain.

Senyawa lain yang diduga memberikan sifat antimikroba adalah α -caryophyllene. Menurut Yanti dkk. (2000) senyawa α -caryophyllene adalah senyawa sesquiterpen yang mempunyai daya antimikroba yang sangat kuat. Dari hasil kromatografi gas cairan dapat diketahui bahwa minyak atsiri lempuyang pahit memiliki kandungan senyawa α -caryophyllene lebih tinggi dibanding dengan minyak atsiri dan ekstrak kasar lempuyang jenis lain.

Menurut Pelczar *et al.* (1977) mekanisme zat antimikroba antara lain menyebabkan kerusakan dinding sel mikroba dan mempengaruhi permeabilitas membran sitoplasma sel. Senyawa-senyawa antimikroba akan merusak struktur dinding sel dengan cara menghambat pertumbuhan dinding sel. Mekanisme dari kerusakan dinding sel tersebut yaitu dengan cara melisiskan membran sel yang merupakan struktur dinding sel. Fessenden dan Fessenden (1999) mengatakan bahwa membran sel merupakan membran yang terbentuk dari protein yang tertanam dan menyatu dengan suatu lapisan rangkap (bilayer) molekul-molekul fosfolipida dengan ujung hidrofobiknya yang menghadap ke dalam dan ujung hidrofiliknya yang menghadap ke luar. Fungsi protein-protein tersebut adalah untuk memungkinkan masuknya air, ion-ion dan senyawa-senyawa termasuk senyawa minyak atsiri. Senyawa minyak atsiri dengan konsentrasi yang tinggi akan berdifusi dan ditangkap oleh sensor hidrofilik. Komponen yang hidrofilik akan mengikat molekul-molekul minyak yang akhirnya menyebabkan lisisnya seluruh membran lipoprotein, sehingga menghambat pertumbuhan dinding sel. Apabila dinding sel yang merupakan pelindung bagi sel rusak, maka akan menyebabkan matinya sel mikroba.

Senyawa-senyawa antimikroba juga akan bekerja mempengaruhi permeabilitas membran sitoplasma sel. Membran sitoplasma sel tersebut berfungsi mempertahankan bahan-bahan yang ada di dalam sel serta secara selektif mengatur ke luar masuknya zat antara sel dengan lingkungan luar. Membran sitoplasma juga merupakan tempat terjadinya reaksi enzim (Pelczar *et al.*, 1977). Rusaknya permeabilitas membran sitoplasma tersebut akan mengakibatkan terhambatnya pertumbuhan sel. Jika dinding sel dan membran sitoplasma rusak, maka akan menghambat pembentukan hifa sehingga akan menghambat pertumbuhan cendawan *F. oxysporum* f.sp. *cubense* dan akhirnya menyebabkan kematian cendawan tersebut.

Pada penelitian ini digunakan fungisida "Benlate" sebagai pembanding karena fungisida ini telah terbukti dapat membunuh beberapa species *Fusarium*. Tetapi dalam penelitian ini ternyata fungisida Benlate tidak mampu menghambat pertumbuhan *F. oxysporum* f.sp. *cubense* penyebab penyakit layu *Fusarium* pada tanaman pisang. Kemampuan minyak atsiri dan ekstrak kasar dari lempuyang pahit dan lempuyang gajah jauh lebih efektif dibandingkan penggunaan fungisida Benlate tersebut.

KESIMPULAN

Minyak atsiri maupun ekstrak kasar lempuyang pahit dan lempuyang gajah dapat menghambat pertumbuhan cendawan *Fusarium oxysporum* Schlecht f.sp. *cubense*. Minyak atsiri lempuyang pahit mampu menghambat pertumbuhan cendawan *Fusarium oxysporum* Schlecht f.sp. *cubense* pada konsentrasi terendah sebesar 1% dan lempuyang gajah sebesar 10%. Ekstrak kasar lempuyang pahit dan lempuyang gajah mampu menghambat pertumbuhan cendawan *Fusarium oxysporum* Schlecht f.sp. *cubense* pada konsentrasi 100%.

DAFTAR PUSTAKA

- Bessey, E.A. 1979. *Morphology and Taxonomy of Fungi*. New Delhi: Vikas Publishing House PVT LTD.
- Dalmadiyo, G., C. Suhara, Supriyono dan Sudjindro. 2000. Evolusi ketahanan aksesi kenaf (*Hibiscus cannabinus* L.) terhadap penyakit layu *Fusarium oxysporum* Schlecht. *Jurnal Penelitian Tanaman Industri*. 6 (4):29-32.
- Djajati, Mulyadi, dan Wahyudi. 1998. Pengaruh pemberian dolomit terhadap serangan cendawan *Fusarium oxysporum* pada tanaman pisang varietas ambon kuning di rumah kaca. *Prosiding Seminar Nasional IV. Perhimpunan Fitopatologi Indonesia Komda Jateng dan DIY*: 157-159.
- Fessenden, R. and J.S. Fessenden. 1992. *Kimia Organik*. Penerjemah: Pudjaatmaka, A.H. Jilid I. Edisi ketiga. Jakarta: Erlangga.
- Fessenden, R. and J.S. Fessenden. 1999. *Kimia Organik*. Penerjemah: Pudjaatmaka, A.H. Jilid II. Edisi ketiga. Jakarta: Erlangga.
- Gandjar, I., R.A. Samson, K. van den Vermeulen, A. Oetari dan I. Santoso. 1999. *Pengenalan Kapang Tropik Umum*. Jakarta: Penerbit Universitas Indonesia.
- Gomez, K.A. dan A.A. Gomez. 1995. *Prosedur Statistik untuk Penelitian Pertanian*. Edisi kedua. Penerjemah: Sjamsudin, E. dan J.S. Baharsjah. Jakarta: Penerbit Universitas Indonesia.
- Guenther, E. 1987. *Minyak Atsiri I*. Penerjemah: Ketaren, S. Jakarta: Penerbit Universitas Indonesia.
- Jacquelyn, G.B. 1999. *Microbiology Principles and Exploration*. Fourth Edition. New Jersey: Prentice Hall Upper Saddle River.
- Kardinan, A. 2000. *Pestisida nabati, Ramuan dan Aplikasi*. Jakarta: Penerbit Penebar Swadaya
- Muhlisah, F. 1999. *Temu-temuan dan Empon-empon Budidaya dan Manfaatnya*. Yogyakarta: Penerbit Kanisius
- Mursito, B. 2000. *Tampil Percaya Diri dengan Ramuan Tradisional*. Jakarta: Penerbit Penebar Swadaya.
- Pelzcar, M.J., R.D. Raid and E.C.S. Chan. 1977. *Microbiology*. New Delhi: Tata Mc Graw-Hill.
- Sneath, P.H.A. and R.R. Sokal. 1973. *Numerical Taxonomy*. San Francisco: W.H. Freeman and Co.
- Soenarjono, H. 1999. Layu *Fusarium*, momok bagi perkebunan pisang. *Trubus* 358: 70-72.
- Supriadi, C. Winarni dan Hernani. 1999. Potensi daya antibakteri beberapa tanaman rempah dan obat terhadap isolat *Ralstonia solanacearum* asal jahe. *Hayati* 6 (2): 43-46.
- Widyaningsih, S., C. Sumardiyono, dan S. Mawardi. 1998. Ketahanan beberapa kultivar pisang terhadap penyakit layu *Fusarium* (*Fusarium oxysporum* Schlecht f. sp. *cubense*). *Prosiding Seminar Nasional IV. Perhimpunan Fitopatologi Indonesia Komda Jateng dan DIY*: 145-148.
- Yanti, R., Suyitno, dan E. Harmayani. 2000. Identifikasi komponen ekstrak sirih (*Piper bettle* Linn.) dari beberapa pelarut dan pemanfaatannya untuk pengawetan ikan. *Agrosains* 13 (3): 239-250.

REVIEW: Senyawa Organosulfur Bawang Putih (*Allium sativum* L.) dan Aktivitas Biologinya

REVIEW: Organosulphure compound of garlic (*Allium sativum* L.) and its biological activities

UDHI EKO HERNAWAN^{*}, AHMAD DWI SETYAWAN^{}**

Jurusan Biologi FMIPA UNS Surakarta 57126.

Korespondensi: ^{*}udhi_z@myquran.com, ^{**}biodiv@uns.ac.id. Tel./Faks. +6271-663375.

Diterima: 7 Juli 2003. Disetujui: 17 Agustus 2003.

Abstract. Garlic has been used a long time ago as traditional medicines. The valuable bulb is used to treat hypertension, respiratory infection, headache, hemorrhoids, constipation, bruised injury or slice, insomnia, cholesterol, influenza, urinary infection, etc. Garlic bulbs can be used as anti-diabetic, anti-hypertension, anti-cholesterol, anti-atherosclerosis, anti-oxidant, anti-cell platelet aggregation, fibrinolyse spur, anti-viral, anti-microbial, and anti-cancer. The ultimate bioactive compound of garlic is organo-sulfure components, i.e. alliin, allicin, ajoene, allyl sulphide groups, and allyl cysteine. There was not any report of any side effects or toxicity of garlic.

Key words: garlic, organo-sulphure, biological activities.

PENDAHULUAN

Ribuan tahun sebelum Masehi, manusia telah memiliki pengetahuan tradisional tentang pengobatan dengan menggunakan ramuan tumbuh-tumbuhan. Pemanfaatan tumbuhan sebagai bahan utama pengobatan telah menjadi bagian dari kebudayaan hampir setiap negara di dunia (Lee *et al.*, 2000). Lebih dari 13.000 jenis tanaman digunakan untuk membuat ribuan resep ramuan pengobatan tradisional dari berbagai belahan dunia (Dahanukar *et al.*, 2000). Peran tumbuhan sebagai bahan obat sama pentingnya dengan perannya sebagai bahan makanan (Raskin *et al.*, 2002).

Dewasa ini minat masyarakat untuk kembali pada pengobatan tradisional semakin meningkat. Pengobatan dengan ramuan tradisional dirasakan lebih murah dari pada obat kimiawi sintetik. Prosedur pembuatannya pun mudah bahkan dalam keadaan mendesak. Peluang untuk mendapatkan ramuan mujarab dan mudah diperoleh masih terbuka lebar, mengingat potensi tanaman obat Indonesia yang tinggi dan belum termanfaatkan semuanya (Thomas, 2000).

Salah satu tanaman yang mempunyai khasiat obat adalah bawang putih (*Allium sativum* L.). Informasi paling awal tentang khasiat obat tanaman dimulai sekitar tahun 3000 SM oleh bangsa Cina (Banerjee dan Maulik, 2002), dan suku-suku pengelana (nomad) Asia Tengah yang menggunakannya untuk mengusir roh jahat dan menjaga kesehatan (Aaron, 1996). Bagian tanaman bawang putih yang paling berkhasiat adalah umbi. Di Indonesia, selain umum digunakan sebagai bumbu masakan, umbi bawang putih digunakan pula untuk mengobati tekanan darah tinggi,

gangguan pernafasan, sakit kepala, ambeien, sembelit, luka memar atau sayat, cacingan, insomnia, kolesterol, flu, gangguan saluran kencing, dan lain-lain (Thomas, 2000; Rukmana, 1995).

TANAMAN BAWANG PUTIH

Sejarah dan penyebaran

Bawang putih telah lama menjadi bagian kehidupan masyarakat di berbagai peradaban dunia. Namun belum diketahui secara pasti sejak kapan tanaman ini mulai dimanfaatkan dan dibudidayakan. Awal pemanfaatan bawang putih diperkirakan berasal dari Asia Tengah. Hal ini didasarkan temuan sebuah catatan medis yang berusia sekitar 5000 tahun yang lalu (3000 SM). Dari Asia Tengah kemudian menyebar ke seluruh dunia, termasuk Indonesia. Sehingga bagi bangsa Indonesia bawang putih merupakan tanaman introduksi (Santoso, 2000).

Bangsa Sumeria telah mengenal bawang putih untuk pengobatan, sekitar tahun 2600–2100 SM. Sedangkan bangsa Mesir Kuno, dalam *Codex Ebers* (1550 SM), mengenal bawang putih sebagai bahan ramuan untuk mempertahankan stamina tubuh para pekerja dan olahragawan. Orang Yahudi kuno mempelajari pemanfaatan bawang putih dari Bangsa Mesir dan menyebarkannya ke semenanjung Arab. Penduduk Romawi diketahui telah lama mengkonsumsi bawang putih terutama, para tentara dan budak. Penduduk Cina dan Korea sudah biasa memanfaatkan bawang putih sebagai obat dan pengusir roh jahat (Banerjee dan Maulik, 2002; Yarnell, 1999).

Bangsa Mesir, Yunani, dan Romawi Kuno sangat memuji dan menggunakan bawang putih. Hippo-

crates menyarankan penggunaannya untuk mengobati sembelit dan diuretik. Aristoteles menyarankan untuk mengobati rabies (Anonim, 1997a). Bawang putih dipercaya dapat meningkatkan stamina para kuli yang membangun piramid, meningkatkan keberanian tentara Romawi dan melawan roh-roh jahat (Dobelis, 1990). Selama awal Perang Dunia I, dokter bedah tentara Inggris menggunakan bawang putih sebagai bakterisida (Anonim, 1997a).

Teks kuno *Charaka-Samhita* dari India menyebutkan khasiat bawang putih untuk serangan jantung dan arthritis. Bawang putih juga masuk dalam catatan kuno India lainnya, yaitu *Bower Manuscript* (300 SM) (Banerjee dan Maulik, 2002; Yarnell, 1999). Bawang putih mencapai Eropa beberapa abad sebelum akhirnya diperkenalkan ke Amerika (Yarnell, 1999). Kapan tanaman tersebut masuk Indonesia, belum diketahui dengan pasti, diduga dibawa oleh para pedagang dari India, Cina, Arab, dan Portugis pada abad 19 (Rukmana, 1995).

Morfologi dan ekologi

Bawang putih termasuk dalam familia Liliaceae (Becker dan Bakhuizen van den Brink, 1963). Tanaman ini memiliki beberapa nama lokal, yaitu, dason putih (Minangkabau), bawang bodas (Sunda), bawang (Jawa Tengah), bhabang poote (Madura), kasuna (Bali), lasuna mawura (Minahasa), bawa badudo (Ternate), dan bawa fiufer (Irian Jaya) (Santoso, 2000; Heyne, 1987).

Bawang putih merupakan tanaman herba parenial yang membentuk umbi lapis. Tanaman ini tumbuh secara berumpun dan berdiri tegak sampai setinggi 30-75 cm. Batang yang nampak di atas permukaan tanah adalah batang semu yang terdiri dari pelepah-pelepah daun. Sedangkan batang yang sebenarnya berada di dalam tanah. Dari pangkal batang tumbuh akar berbentuk serabut kecil yang banyak dengan panjang kurang dari 10 cm. Akar yang tumbuh pada batang pokok bersifat rudimenter, berfungsi sebagai alat penghisap makanan (Santoso, 2000).

Bawang putih membentuk umbi lapis berwarna putih. Sebuah umbi terdiri dari 8-20 siung (anak bawang). Antara siung satu dengan yang lainnya dipisahkan oleh kulit tipis dan liat, serta membentuk satu kesatuan yang kuat dan rapat. Di dalam siung terdapat lembaga yang dapat tumbuh menerobos pucuk siung menjadi tunas baru, serta daging pembungkus lembaga yang berfungsi sebagai pelindung sekaligus gudang persediaan makanan. Bagian dasar umbi pada hakikatnya adalah batang pokok yang mengalami rudimentasi (Santoso, 2000; Zhang, 1999).

Helaian daun bawang putih berbentuk pita, panjang dapat mencapai 30-60 cm dan lebar 1-2,5 cm. Jumlah daun 7-10 helai setiap tanaman. Pelepah daun panjang, merupakan satu kesatuan yang membentuk batang semu. Bunga merupakan bunga majemuk yang tersusun membulat; membentuk infloresensi payung dengan diameter 4-9 cm. Perhiasan bunga berupa tenda bunga dengan 6 tepala berbentuk bulat telur. Stamen berjumlah 6, dengan panjang filamen 4-5 mm, bertumpu pada

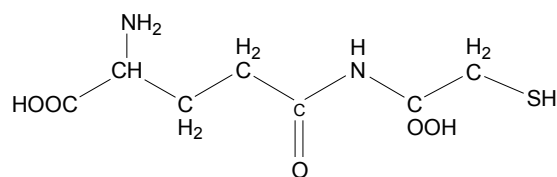
dasar perhiasan bunga. Ovarium superior, tersusun atas 3 ruangan. Buah kecil berbentuk kapsul loculicidal (Becker dan Bakhuizen van den Brink, 1963; Zhang, 1999).

Bawang putih umumnya tumbuh di dataran tinggi, tetapi varietas tertentu mampu tumbuh di dataran rendah. Tanah yang bertekstur lempung berpasir atau lempung berdebu dengan pH netral menjadi media tumbuh yang baik. Lahan tanaman ini tidak boleh tergenang air. Suhu yang cocok untuk budidaya di dataran tinggi berkisar antara 20-25°C dengan curah hujan sekitar 1.200-2.400 mm pertahun, sedangkan suhu untuk dataran rendah berkisar antara 27-30°C (Santoso, 2000).

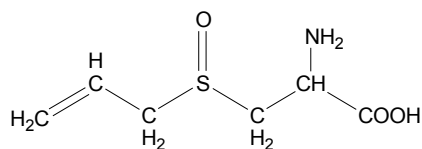
METABOLIT SEKUNDER: ORGANOSULFUR

Metabolit sekunder yang terkandung di dalam umbi bawang putih membentuk suatu sistem kimiawi yang kompleks serta merupakan mekanisme pertahanan diri dari kerusakan akibat mikroorganisme dan faktor eksternal lainnya. Sistem tersebut juga ikut berperan dalam proses perkembangbiakan tanaman melalui pembentukan tunas (Amagase *et al.*, 2001).

Sebagaimana kebanyakan tumbuhan lain, bawang putih mengandung lebih dari 100 metabolit sekunder yang secara biologi sangat berguna (Challem, 1995). Senyawa ini kebanyakan mengandung belerang yang bertanggungjawab atas rasa, aroma, dan sifat-sifat farmakologi bawang putih (Ellmore dan Fekldberg, 1994). Dua senyawa organosulfur paling penting dalam umbi bawang putih, yaitu asam amino non-volatil γ -glutamil-S-alk(en)il-L-sistein (1) dan minyak atsiri S-alk(en)il-sistein sulfoksida atau alliin (2).

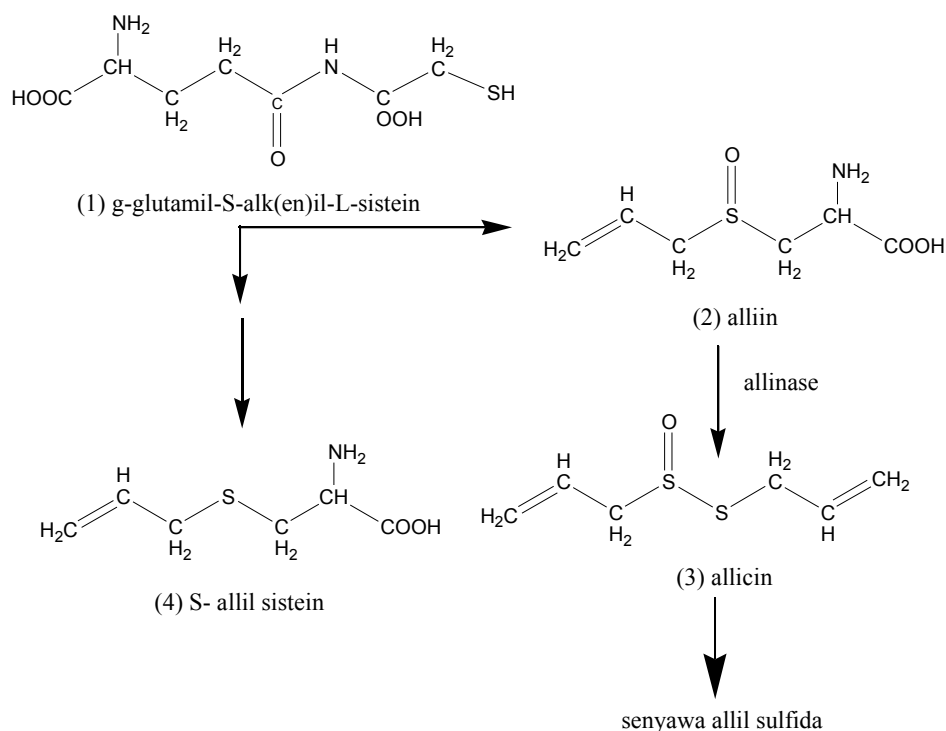


(1) γ -glutamil-S-alk(en)il-L-sistein

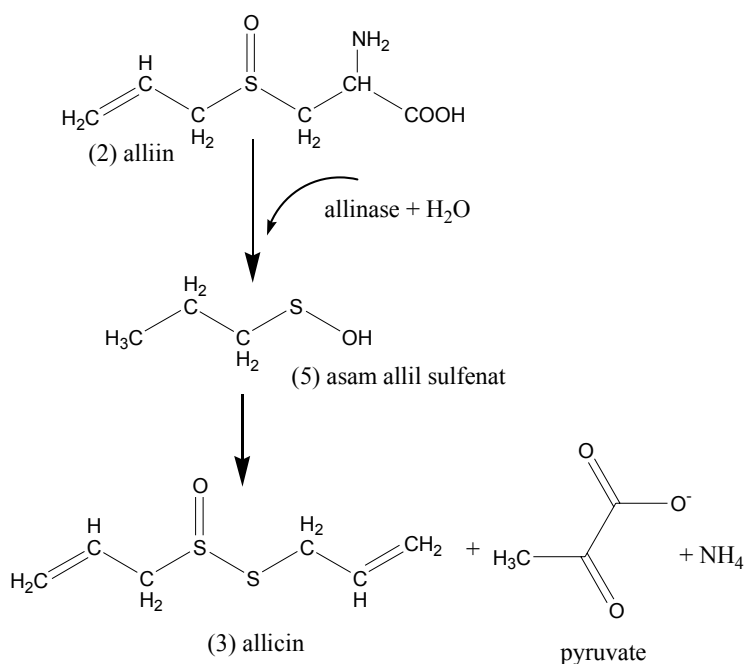


(2) alliin

Dua senyawa di atas menjadi prekursor sebagian besar senyawa organosulfur lainnya. Kadarnya dapat mencapai 82% dari keseluruhan senyawa organosulfur di dalam umbi (Zhang, 1999). Senyawa γ -glutamil-S-alk(en)il-L-sistein (1) merupakan senyawa intermediat biosintesis pembentukan senyawa organosulfur lainnya, termasuk alliin (2). Senyawa ini dibentuk dari jalur biosintesis asam



Gambar 1. Jalur Pemecahan γ -glutamyl-S-alk(en)il-L-sistein.



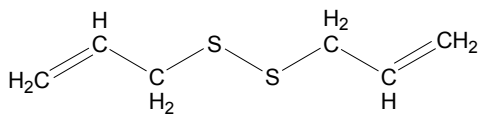
Gambar 2. Reaksi pembentukan allicin (3).

amino. Dari γ -glutamyl-S-alk(en)il-L-sistein (1), reaksi enzimatis yang terjadi akan menghasilkan banyak senyawa turunan, melalui dua cabang reaksi, yaitu jalur pembentukan thiosulfinat dan S-allyl sistein (SAC) (4) (Gambar 1). Dari jalur pembentukan thiosulfinat akan dihasilkan senyawa allisin (allisin) (3). Selanjutnya dari jalur ini akan dibentuk kelompok allil sulfida, dithiin, ajoene, dan senyawa sulfur lain (Song dan Milner, 2001).

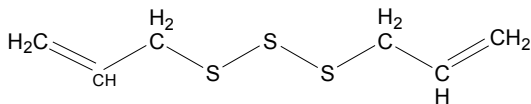
Proses reaksi pemecahan γ -glutamyl-S-alk(en)il-L-sistein (1) berlangsung dengan bantuan enzim γ -glutamyl-transpeptidase dan γ -glutamyl-peptidase oksidase, serta akan menghasilkan alliin (2) (Song dan Milner, 2001). Pada saat umbi bawang putih diiris-iris dan dihaluskan dalam proses pembuatan ekstrak atau bumbu masakan, enzim allinase menjadi aktif dan menghidrolisis alliin (2) menghasilkan senyawa intermediet asam allil sulfenat (5). Kondensasi asam tersebut menghasilkan allisin (3), asam piruvat, dan ion NH₄⁺ (Gambar 2). Satu miligram alliin (2) ekuivalen dengan 0,45 mg allisin (3) (Zhang, 1999). Pemanasan dapat menghambat aktivitas enzim allinase. Pada suhu di atas 60°C, enzim ini inaktif (Song dan Milner, 2001).

Asam amino alliin (2) akan segera berubah menjadi allisin begitu umbi diremas (Dreidger, 1996). Allisin (3) bersifat tidak stabil (Amagase *et al.*, 2001), sehingga mudah mengalami reaksi lanjut, tergantung kondisi pengolahan atau faktor eksternal lain seperti penyimpanan, suhu, dan lain-lain. Ekstraksi umbi bawang putih dengan etanol pada suhu di bawah 0°C, akan menghasilkan alliin (2). Ekstraksi dengan etanol dan air pada suhu 25°C akan menghasilkan allisin (3) dan tidak menghasilkan alliin (2). Sedang ekstraksi dengan metode distilasi uap (100°C) menyebabkan seluruh kandungan alliin berubah menjadi senyawa

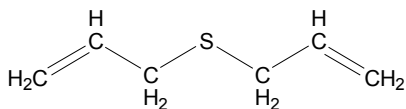
allil sulfida (Zhang, 1999). Oleh karena itu proses ekstraksi perlu dilakukan pada suhu kamar. Pemanasan dapat menurunkan aktivitas anti-kanker ekstrak umbi bawang putih. Pengolahan ekstrak dengan *microwave* selama 1 menit menyebabkan hilangnya 90% kinerja enzim allinase. Pemanasan dapat menyebabkan reaksi pembentukan senyawa allil-sulfur terhenti (Song dan Milner, 2001).



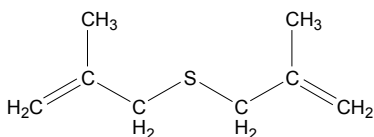
(6) diallil disulfida



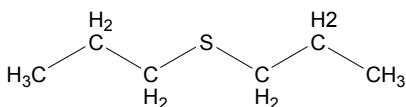
(7) diallil trisulfida



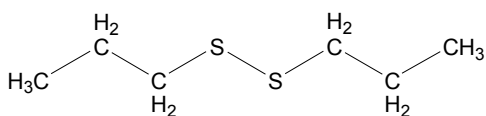
(8) diallil sulfida



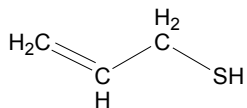
(9) metallil sulfida



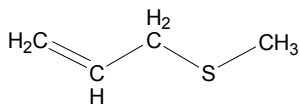
(10) dipropil sulfida



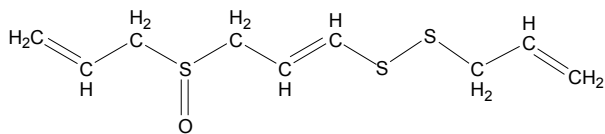
(11) dipropil disulfida



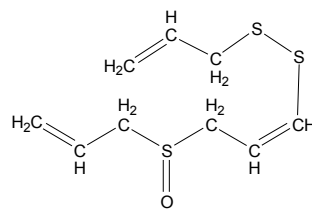
(12) allilmerkaptan



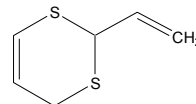
(13) allil metil sulfida



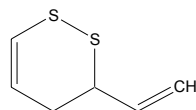
(14) E-ajoene



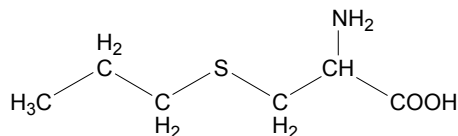
(15) Z-ajoene



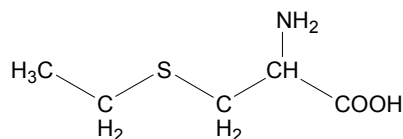
(16) 2-vinil-(4H)-1,3-dithiin



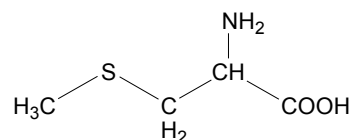
(17) 3-vinil-(4H)-1,2-dithiin



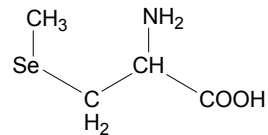
(18) S-propil-sistein



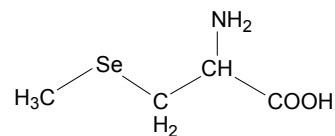
(19) S-etil-sistein



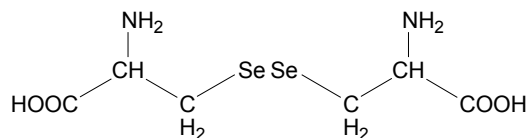
(20) S-metilsistein



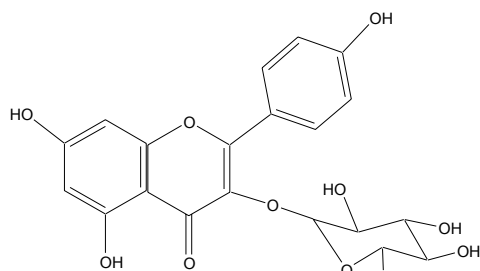
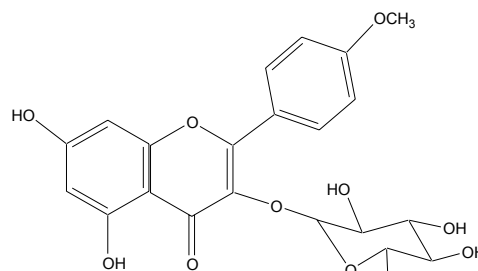
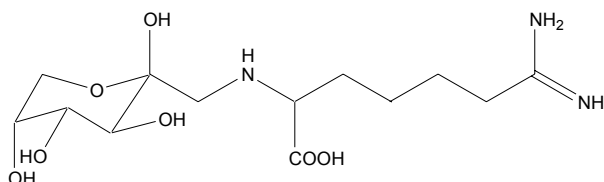
(21) Se-(metil)selenosistein



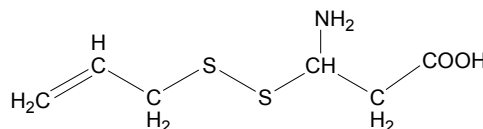
(22) selenometionin



(23) selenosistein

(24) kaempferol-3-O- β -D-glukopiranososa(25) isorhamnetin-3-O- β -D-glukopiranososa

(26) Na-(1-deoxy-D-fructose-1-yl)-L-arginin



(27) S-allil merkaptosistein

Allisin (3) merupakan prekursor pembentukan allil sulfida, misalnya diallil disulfida (DADS) (6), diallil trisulfida (DATS) (7), diallil sulfida (DAS) (8), metallil sulfida (9), dipropil sulfida (10), dipropil disulfida (11), allil merkaptan (12), dan allil metil sulfida (13). Kelompok allil sulfida memiliki sifat dapat larut dalam minyak. Oleh karena itu, untuk mengekstraknya digunakan pelarut non-polar (Gupta dan Porter, 2001). Pembentukan kelompok ajoene, misalnya E-ajoene (14) dan Z-ajoene (15), serta kelompok dithiin, misalnya 2-vinil-(4H)-1,3-dithiin (16) dan 3-vinil-(4H)-1,2-dithiin (17), juga berawal dari pemecahan allisin (3) (Zhang, 1999).

Senyawa organosulfur lain yang terkandung dalam umbi bawang putih antara lain, S-propil-sistein (SPC) (18), S-etil-sistein (SEC) (19), dan S-metil-sistein (SMC) (20). Umbi bawang putih juga mengandung senyawa organo-selenium dan tellurium, antara lain Se-(metil)selenosistein (21), selenometionin (22), dan selenosistein (23). Senyawa-senyawa di atas (18–23) mudah larut dalam air (Gupta dan Porter, 2001). Beberapa senyawa bioaktif flavonoid penting yang telah ditemukan antara lain: kaempferol-3-O- β -D-glukopiranososa (24) dan iso-rhamnetin-3-O- β -D-glukopiranososa (25) (Kim *et al.*, 2000). Senyawa frukto-peptida yang penting, yaitu Na-(1-deoxy-D-fructose-1-yl)-L-arginin (26) (Ryu *et al.*, 2001).

Ekstrak segar umbi bawang putih dapat disimpan lama dalam ethanol 15–20%. Penyimpanan selama sekitar 20 bulan pada suhu kamar akan menghasilkan AGE (*aged garlic extract*). Selama penyimpanan, kandungan allisin (3) akan menurun dan sebaliknya diikuti naiknya konsentrasi senyawa-senyawa baru. Senyawa yang dominan terkandung adalah S-allil sistein (4) dan S-allilmerkaptosistein (SAMC) (27) (Banerjee dan Maulik, 2002; Amagase *et al.*, 2001).

Selain dalam bentuk ekstrak padatan, umbi bawang putih dapat pula diolah melalui distilasi uap menjadi minyak atsiri bawang putih yang banyak digunakan dalam pengobatan. Kandungan kimia minyak atsiri bawang ini secara umum terdiri dari

57% diallil sulfida (8), 37% allil metil sulfida (13), dan 6% dimetil sulfida. Minyak bawang komersial umumnya mengandung 26% diallil disulfida (6), 19% diallil trisulfida (7), 15% allil metil trisulfida, 13% allil metil disulfida, 8% diallil tetrasulfida, 6% allil metil tetrasulfida, 3% dimetil trisulfida, 4% pentasulfida, dan 1% heksasulfida. Minyak bawang hasil maserasi mengandung kelompok vinyl-dithiin 0,8 mg/g dan ajoena 0,1 mg/g, sedangkan ekstrak eter mengandung vinyl-dithiin 5,7 mg/g, allil sulfida 1,4 mg/g, dan ajoena 0,4 mg/g (Banerjee dan Maulik, 2002).

AKTIVITAS BIOLOGI

Para pakar kesehatan secara konsisten melakukan penggalian informasi khasiat bawang putih melalui penelitian farmakologi laboratoris yang sistematis (Rukmana, 1995). Tahapan pengujian, penelitian, dan pengembangan secara sistematis perlu dilakukan agar pemanfaatan dan khasiat bawang putih dapat dipertanggungjawabkan secara ilmiah (Budhi, 1994), bukan sekedar pengetahuan yang diperoleh secara turun temurun. Pembuatan catatan atau dokumentasi ilmiah atas hasil penelitian tersebut dilakukan agar dapat terus dimanfaatkan dan dikembangkan oleh generasi di masa depan. Penelitian farmakologi tentang bawang putih telah banyak dilakukan, tidak hanya secara *in vivo* (dengan hewan percobaan) tetapi juga *in vitro* (dalam tabung kultur). Hal ini ditempuh untuk membuktikan khasiat dan aktivitas biologi dari senyawa aktif bawang putih, sekaligus dosis dan kemungkinan efek sampingnya. Berbagai penelitian yang telah dikembangkan untuk mengeksplorasi aktivitas biologi umbi bawang putih yang terkait dengan farmakologi, antara lain sebagai anti-diabetes, anti-hipertensi, anti-kolesterol, anti-aterosklerosis, anti-oksidan, anti-agregasi sel platelet, pemacu fibrinolisis, anti-virus, anti-mikrobia, dan anti-kanker.

Anti-diabetes

Diabetes mellitus (DM) merupakan penyakit fisiologis berupa perubahan homeostasis glukosa yang menyebabkan kadar glukosa plasma darah di atas normal. Kondisi ini sering disebut hiperglikemik (Maher, 2000). Berbagai jenis tumbuhan obat telah dimanfaatkan untuk terapi penyakit tersebut. Banyak penelitian telah sampai pada isolasi senyawa aktif tumbuhan yang mampu memberikan efek hipoglikemik atau anti-diabetes, termasuk diantaranya umbi bawang putih.

Efek hipoglikemik umbi bawang putih telah dibuktikan secara *in vivo*, sedangkan secara *in vitro* belum dilakukan. Penelitian awal mengenai efek hipoglikemik bawang putih dilakukan oleh Mathew dan Augusti (1973), dengan melakukan isolasi allisin (3) dan memberikannya pada tikus diabetes. Pada perlakuan dengan dosis 250 mg/kg BB, diketahui allisin (3) mampu menurunkan kadar glukosa darah 60% lebih efektif daripada tolbutamid. Selanjutnya, Augusti (1975) memberi perlakuan ekstrak umbi bawang putih pada kelinci yang diinduksi diabetes menggunakan alloxan. Allisin (3) dari ekstrak umbi bawang putih dapat menurunkan kadar glukosa darah kelinci seperti halnya tolbutamid (obat sintesis untuk penderita diabetes). Pada perkembangan berikutnya, semua penelitian yang mengkaji efek hipoglikemik umbi bawang putih menunjukkan hasil positif (Banerjee dan Maulik, 2002).

Sheela *et al.* (1995) mengisolasi senyawa asam amino sulfoksida dari bawang putih untuk kemudian diperlakukan pada tikus diabetes. Senyawa yang berhasil diisolasi adalah S-metilsistein sulfoksida (SMCS) dan alliin atau S-allilsistein sulfoksida (2). Perlakuan ekstrak selama sebulan menunjukkan penurunan kadar glukosa darah yang signifikan. Alliin (2) pada dosis 200 mg/kg BB mempunyai unjuk kerja yang sama dengan glibenclamide (obat diabetes) dan hormon insulin.

Perlakuan ekstrak minyak atsiri bawang putih pada tikus diabetes dapat menurunkan kadar enzim fosfatase dalam sel darah merah, fosfatase asam dan alkali, transferase alanin, transferase aspartat, dan amilase dalam serum darah. Enzim-enzim tersebut berperan dalam metabolisme glukosa (Ohaeri, 2001). Perlakuan dengan ekstrak yang sama pada manusia normal juga menunjukkan adanya aktivitas hipoglikemik pada serum darah. Kadar glukosa darah para sukarelawan mengalami penurunan setelah diberi perlakuan selama 11 minggu (Zhang *et al.*, 2001).

Mekanisme penurunan kadar glukosa darah oleh ekstrak bawang putih masih belum diketahui secara jelas. Senyawa yang berperan telah diketahui yakni allisin (3) dan alliin (2) (Augusti, 1975; Sheela *et al.*, 1995). Kemungkinan masih terdapat senyawa lain yang juga mampu menurunkan kadar glukosa darah pada diabetes mellitus. Allisin (3) dan alliin (2) mampu menjadi agen anti-diabetes dengan mekanisme perangsangan pankreas untuk mengeluarkan sekret insulinnya lebih banyak (Banerjee dan Maulik, 2002).

Anti-hipertensi

Hipertensi merupakan salah satu bentuk penyakit kardiovaskuler. Penyakit ini dicirikan tekanan darah penderita yang mengalami kenaikan di atas normal (Koya dan King, 1998). Tekanan normal untuk manusia adalah sistolik di bawah 140 mm Hg dan diastolik 90 mm Hg. Gaya hidup dan pola makan merupakan faktor utama yang berperan sebagai pemicu hipertensi. Oleh karena itu, terapi yang paling tepat untuk pengobatan dan pencegahan adalah perbaikan gaya hidup dan pola makan (Banerjee dan Maulik, 2002).

Penelitian awal tentang efek hipotensif (penurunan tekanan darah) dari ekstrak umbi bawang putih dilakukan oleh Foushee *et al.* (1982). Perlakuan diberikan dengan dosis 0,1; 0,25; dan 0,5 ml/kg BB secara oral. Efek hipotensif ekstrak mulai muncul 1 jam setelah perlakuan dan menghilang 24 jam kemudian. Dosis 0,5 ml/kg BB merupakan dosis perlakuan yang memiliki aktivitas hipotensif paling tinggi.

Ekstrak umbi bawang putih dengan dosis 2,4 g/individu/hari mampu menurunkan tekanan darah penderita hipertensi. Penurunan tekanan darah muncul 5–14 jam setelah perlakuan. Ekstrak tersebut mengandung allisin (3) 1,3%. Efek samping pada sukarelawan setelah perlakuan tidak ditemukan (McMahon dan Vargas, 1993). Penelitian juga menunjukkan bahwa pemanfaatan umbi bawang putih dalam bumbu masakan dapat menekan peluang terkena hipertensi. Rata-rata konsumsi umbi bawang putih 134 gram per bulan dianjurkan untuk mencegah hipertensi (Qidwai *et al.*, 2000). Mekanisme penurunan tekanan darah diperkirakan berkaitan dengan vasodilatasi otot pembuluh darah yang dipengaruhi senyawa dalam ekstrak umbi bawang putih. Potensial membran otot polos mengalami penurunan hingga nilainya negatif. Hal ini menyebabkan tertutupnya Ca^{2+} -channel dan terbukanya K^{+} -channel sehingga terjadi hiperpolarisasi. Konsekuensinya otot akan mengalami relaksasi (Siegel *et al.*, 1992).

Senyawa aktif umbi bawang putih yang diketahui mempengaruhi ketersediaan ion Ca^{2+} untuk kontraksi otot jantung dan otot polos pembuluh darah adalah kelompok ajoene (14-15). Konsentrasi ion Ca^{2+} -intraseluler yang tinggi dapat menyebabkan vasokonstriksi yang menyebabkan hipertensi. Senyawa aktif tersebut diperkirakan dapat menghambat masuknya ion Ca^{2+} ke dalam sel, sehingga konsentrasi ion Ca^{2+} intraseluler menurun dan terjadi hiperpolarisasi, diikuti relaksasi otot. Relaksasi menyebabkan ruangan dalam pembuluh darah melebar, sehingga tekanan darah turun (Siegel *et al.*, 1992).

Anti-oksidan

Oksidasi DNA, protein, dan lemak oleh oksigen reaktif (*reactive oxygen species/ ROS*) merupakan faktor utama kasus penuaan dini, penyakit kardiovaskuler, kanker, neurodegenerasi dan inflamasi. Untuk mencegah proses oksidasi, maka digunakan senyawa anti-oksidan. Aktivitas senyawa tersebut, biasanya disebut anti-oksidatif. Dari

berbagai penelitian *in vitro*, ekstrak umbi bawang putih diketahui memiliki aktivitas anti-oksidatif (Borek, 2001).

Borek (2001) menyebutkan aktivitas anti-oksidatif ekstrak umbi bawang putih, antara lain peningkatan enzim protektif, yaitu glutathione superoksida dismutase, katalase, glutathione peroksidase pada sel endotel pembuluh darah; peningkatan sitoproteksi terhadap radikal bebas dan senyawa asing, seperti benzopyrene, karbon tetraklorida, acetaminophen, isoproterenol, doxorubicin, dan adriamisin; penghambatan peroksidasi pada lemak jantung, hati, dan ginjal; penghambatan aktivitas ROS; penghambatan oksidasi yang diinduksi oleh Cu^{2+} pada LDL; penghambatan aktivitas NF- κ B (*nuclear factor- κ B*); penghambatan mutagenesis DNA oleh aflatoxin dari *Salmonella typhimurium*; penghambatan aktivitas sitokrom P₄₅₀; dan penghambatan TNF- α (*tumor necrosis factor- α*) pada sel T.

Allisin (3) merupakan anti-oksidan utama dalam umbi bawang putih. Senyawa ini mampu menekan produksi nitrat oksida (NO) melalui 2 jalur, yakni pada konsentrasi rendah (10 μM), menghambat kerja enzim *cytokine-induced NO synthase (iNOS)* melalui pengendalian *iNOS mRNA*, sedangkan pada konsentrasi tinggi (40 μM) menghambat transport arginin melalui mekanisme pengendalian *CAT-2 mRNA (cationic amino acid transporter-2 mRNA)*. Akumulasi NO akan menginduksi pembentukan oksidator kuat, peroksinitrit. NO dapat dihasilkan dari asam amino arginin dengan bantuan enzim nitrat oksida sintase (Schwartz *et al.*, 2002).

Radikal bebas yang terdapat dalam rokok juga dihambat aktivitasnya oleh ekstrak umbi bawang putih (Torok *et al.*, 1994). Senyawa organosulfur dalam ekstrak AGE umbi bawang putih, yaitu SAC (4) dan SAMC (27), mampu menghambat oksidasi yang disebabkan senyawa *chemiluminescence* dan mencegah pembentukan senyawa asam tiobarbiturat reaktif dalam hati. SAC (4) dan SAMC (27) juga menghambat aktivitas t-butil hidroperoksida dan 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH). Dua senyawa ini merupakan senyawa oksidator yang cukup kuat (Imai *et al.*, 1994). Ekstrak AGE juga dapat melindungi jaringan dari hipersensitivitas radiasi sinar ultraviolet B (280–320 nm) (Reeve *et al.*, 1993).

Senyawa yang mampu menghambat aktivitas hidrogen peroksida adalah Na-(1-Deoxy-D-Fructose-1-yl)-L-arginin (26). Senyawa ini ditemukan pada ekstrak AGE. Dalam 5 liter ekstrak AGE komersial terkandung 700 mg senyawa anti-oksidan tersebut (Ryu *et al.*, 2001). Dua senyawa flavonoid, kaempferol-3-O- β -D-glukopiranosida (24) dan isorhamnetin-3-O- β -D-glukopiranosida (25), diketahui menghambat oksidasi yang disebabkan DPPH dan peroksida asam linoleat (Kim *et al.*, 2000).

Anti-kolesterol dan anti-aterosklerosis

Bawang putih dapat mengurangi pembekuan darah dan mengurangi tekanan darah, sehingga penting dalam terapi penyakit kardiovaskuler

(Mabey, *et al.*, 1988). Allisin dan adenosin merupakan kandungan anti-platelet paling penting dalam bawang putih (Agarwal, 1996). Minyak bawang putih yang diberikan kepada pasien penyakit jantung koroner dapat menghambat agregasi platelet secara *in vivo*. Pemberian bawang putih dengan dosis rendah menghambat agregasi platelet tersebut (Bordia *et al.*, 1996). Dithiin (16-17) dan ajoene memiliki sifat-sifat antithrombotik, bahkan ajoene kini dikembangkan untuk obat gangguan thromboembolik (Agarwal, 1996). Dithiin dan ajoene menurunkan kecepatan pembekuan darah karena bersifat antikoagulasi dan darah rendah. Hal ini secara langsung dapat mengurangi resiko stroke dan penyakit kardiovaskuler (Jesse *et al.*, 1997).

Bawang putih dapat menaikkan fungsi kardiovaskuler karena dapat menjaga serangan hiperkolesterolemik, artero sklerosis, ischemia-reperfusion, arrhythmia, dan infarksi. Radikal bebas merupakan penyebab utama penyakit ini dan antioksidan tampaknya dapat mengimbangi hal ini karena dapat memburu radikal bebas ini (Prasad *et al.*, 1996). Suatu keadaan dimana kadar lemak dalam darah mengalami kenaikan melebihi batas normal disebut hiperlipidaemia. Keadaan ini biasa dihadapi oleh seseorang yang mengalami masalah kegemukan. Hiperlipidaemia meliputi dua kondisi yaitu, hiperkolesterolaemia (kolesterol tinggi) dan hipertrigliseridaemia (trigliserida tinggi). Keduanya memicu aterosklerosis dan mempertinggi resiko penyakit kardiovaskuler (Barness, 2002).

Penelitian yang menguji khasiat umbi bawang putih untuk menurunkan kadar kolesterol dalam darah telah dilakukan pada hewan percobaan dan manusia. Dari berbagai penelitian tersebut, diketahui pemberian ekstrak umbi bawang putih dengan kandungan 10 mg alliin (2) dan/atau 4000 μg allisin (3) dapat menurunkan kadar kolesterol total serum antara 10-12%; kolesterol LDL turun sekitar 15%; kolesterol HDL naik sekitar 10%; dan trigliserida turun 15% (Berthold *et al.* 1998; Pizorno dan Murray, 2000; Zhang *et al.*, 2001; Yeh dan Liu, 2001).

Senyawa SAC (4), SPC (18) dan SEC (19) pada konsentrasi 2–4 mmol/liter mampu menghambat kecepatan sintesis kolesterol antara 40–60%, sedangkan γ -glutamyl-S-alk(en)il-L-sistein (1) mampu menghambat kecepatannya hingga 20–35%. Kelompok senyawa allil sulfida, yakni DADS (6), DATS (7), DAS (8), dipropil sulfida (10), dipropil disulfida (11), dan allil metil sulfida (13) pada konsentrasi 0,05–0,5 mmol/liter mampu menghambat 10–15%. Sedangkan alliin (2) tidak menunjukkan aktivitas penghambatan (Yeh dan Liu, 2001). Ekstrak segar umbi bawang putih 1 g/L menunjukkan 50% *inhibitory konsentrasi* (IC₅₀) pada aktivitas enzim squalene mono-oksigenase. Enzim tersebut merupakan enzim yang berperan dalam biosintesis kolesterol. Senyawa yang menunjukkan aktivitas penghambatan adalah selenosistein (23) (IC₅₀ = 65 mmol/L), SAC (4) (IC₅₀ = 110 mmol/L), alliin (2) (IC₅₀ = 120 mmol/L), DATS (7) (IC₅₀ = 195 mmol/L), dan

DADS (6) ($IC_{50} = 400 \text{ mmol/L}$). Reaksi penghambatan kerja enzim tersebut bersifat irreversibel (Gupta dan Porter, 2001).

Penelitian secara *in vitro* menggunakan hepatosit menunjukkan senyawa organosulfur bawang putih menghambat biosintesis kolesterol. Namun, tahap biosintesis yang lebih detail belum diketahui. Kemungkinan mekanisme penghambatannya melalui dua cara, yaitu: (i) penghambatan pada reaksi enzim hydroxymethylglutaryl-CoA reduktase dan (ii) penghambatan pada reaksi enzim lain, seperti squalene mono-oksigenase dan lanosterol-14-demethylase (Pizorno dan Murray, 2000; Gupta dan Porter, 2001).

Atherosklerosis merupakan penyempitan pembuluh darah karena lemak. Oleh karena itu, hubungan atherosklerosis dengan fungsi metabolisme lemak sangat erat. Kelainan metabolisme lemak, seperti hiperlipidaemia, dapat mempertinggi resiko atherosklerosis. Dari berbagai penelitian diketahui bahwa ekstrak umbi bawang putih dapat menekan terjadinya atherosklerosis (Yarnell, 1999). Perlakuan ekstrak umbi bawang putih selama 2 tahun dapat menjaga elastisitas aorta sukarelawan pada berbagai kelompok umur. Hal ini ditunjukkan dengan nilai kecepatan denyut nadi ($PWV/pulse \text{ wave velocity}$) dan resistensi pembuluh elastis ($EVR/elastic \text{ vascular resistance}$) yang secara signifikan lebih rendah dari kontrol, baik pada kondisi tubuh istirahat maupun bekerja (Breithaupt-Grogle *et al.*, 1997).

Ekstrak AGE dapat mengurangi 64% area dalam aorta yang tertutup oleh lemak dan secara signifikan menurunkan kadar kolesterol. Ekstrak AGE juga dapat mengurangi penebalan dinding aorta sampai 50%, mencegah perubahan fenotipe dan proliferasi jaringan otot polos pembuluh darah, dan mengurangi akumulasi lemak pada kultur makrofag. Mekanisme aktivitas biologi tersebut berkaitan dengan pengaruh umbi bawang putih terhadap metabolisme kolesterol (Campbell *et al.*, 2001).

Anti-agregasi sel platelet

Platelet (trombosit) berperan penting dalam hemostasis (penghentian perdarahan). Mekanisme hemostasis diawali dengan agregasi platelet pada dinding pembuluh darah yang terluka. Agregasi ini terjadi apabila sel platelet diaktivasi oleh adanya luka dan diinduksi oleh ADP (adenosin difosfat), epinefrin, kolagen, thrombin, arachidonat, PAF (*platelet aggregation factor*) dan ionofor A-23187 (Apitz-Castro *et al.*, 1983; Marieb, 1997). Agregasi platelet terjadi apabila reseptor fibrinogen pada permukaan sel terbuka. Dengan bantuan ion Ca^{2+} ekstraseluler, reseptor tersebut berikatan dengan fibrinogen dan sel platelet yang telah teraktivasi untuk membentuk agregat. Reseptor fibrinogen merupakan heterodimer dari G-ptotein (GP) IIb dan IIIa. Reseptor ini banyak mengandung gugus -SH (Steiner dan Liu, 2001). Agregasi platelet dapat juga terjadi pada pembuluh darah yang mengalami atherosklerosis, sehingga aliran darah terhenti oleh aktivitas pembekuan darah. Terhentinya aliran darah dapat berakibat serius, yaitu kematian (Banerjee dan Maulik, 2002). Berbagai penelitian

menunjukkan potensi umbi bawang putih sebagai agen anti-agregasi platelet.

Ekstrak metanol umbi bawang putih mampu menghambat agregasi platelet yang diinduksi oleh kolagen, trombin, dan arakhidonat. Dari ekstrak tersebut, diisolasi tiga senyawa aktif, yaitu DAT (7), vinil dithiin (16-17), dan alil-heksa-dienil trisulfida (Apitz-Castro *et al.*, 1983). Ajoene (14-15) yang diisolasi dari minyak atsiri bawang putih memiliki aktivitas anti-agregasi paling tinggi dibandingkan senyawa-senyawa lain, termasuk allisin (3) dan adenosin (Lawson *et al.*, 1992).

Perlakuan 5 mL atau 1,4 g ekstrak AGE pada sukarelawan selama 13 minggu berturut-turut dapat menghambat kecepatan agregasi platelet yang diinduksi dengan ADP sampai $10 \mu\text{mol/L}$ (Rahman dan Billington, 2001). Kadar platelet yang melekat pada kolagen, fibrinogen, dan faktor *von Willebrand* menurun setelah 2 minggu perlakuan ekstrak AGE pada dosis antara 2,4-7,2 g (Steiner dan Li, 2001). Penghambatan agregasi platelet oleh umbi bawang putih diperkirakan terjadi melalui ion Ca^{2+} . Proses transport Ca^{2+} ke dalam sitoplasma sel platelet dihambat oleh ajoene dan senyawa organosulfur lain, sehingga tidak terjadi agregasi platelet (Steiner dan Liu, 2001).

Pemacu fibrinolisis

Fibrinolisis merupakan salah satu mekanisme dalam hemostasis. Gumpalan darah yang tidak perlu dibersihkan melalui proses fibrinolisis. Tanpa fibrinolisis, pembuluh darah dapat macet karena tersumbat gumpalan darah (Marieb, 1997). Pada penderita diabetes mellitus, hipertensi, hiperlipidaemia, dan atherosklerosis, proses fibrinolisis dapat mengalami penurunan (Banerjee dan Maulik 2002). Perlakuan minyak atsiri bawang putih (dosis 1 g/kg BB/hari) dan jus umbi bawang putih (dosis 250 mg/hari) dapat menaikkan aktivitas fibrinolisis secara signifikan pada kelinci yang diberi asupan kolesterol selama 12-13 minggu. Aktivitas fibrinolisis mengalami penurunan pada kelompok kontrol karena asupan kolesterol dengan dosis 0,2 g/kg BB/hari (Banerjee dan Maulik, 2002). Penelitian pada manusia juga menunjukkan hasil yang positif dalam hitungan 6-12 jam setelah perlakuan berbagai macam ekstrak umbi bawang putih. Alliin (2) diperkirakan berperan dalam peningkatan aktivitas fibrinolisis (Pizorno dan Murray, 2000).

Anti-mikrobia

Umbi bawang putih berpotensi sebagai agen anti-mikrobia. Kemampuannya menghambat pertumbuhan mikrobia sangat luas, mencakup virus, bakteri, protozoa, dan jamur (Tabel 1) (Nok *et al.*, 1996; Zhang, 1999; Ohta *et al.*, 1999; Pizorno dan Murray, 2000; Yin *et al.*, 2002). Ajoene (14-15), yang terdapat dalam ekstrak maserasi bawang putih, mempunyai aktivitas anti-virus paling tinggi dibandingkan senyawa lain, seperti allisin (3), alil metil tiosulfinat, dan metil allil tiosulfinat. Ajoene (14-15) juga menghambat pertumbuhan bakteri gram negatif dan positif, serta khamir

(Naganawa, *et al.*, 1996). Tes Ames membuktikan bahwa senyawa ini dapat menghambat mutagenesis baik yang disebabkan perlakuan benzo[a]pyreded (B[a]P) atau 4-nitro-1,2-phenylenediamine (Ishikawa *et al.*, 1996). Penghambatan ini sangat efektif pada mutasi tipe transisi (Agarwal, 1996). Ajoene (14-15) di pasaran tidak diperoleh dari bawang putih, karena jumlahnya sangat sedikit dalam minyak atsiri alami (Ishikawa *et al.*, 1996).

Tabel 1. Spesies mikrobial yang pertumbuhannya dihambat ekstrak bawang putih.

Kelompok	Spesies
Bakteri	1. <i>Staphylococcus aureus</i>
	2. α - & β -hemolytic streptococcus
	3. <i>Citrobacter freundii</i>
	4. <i>Enterococcus cloacae</i>
	5. <i>Enterobacter cloacae</i>
	6. <i>Escherichia coli</i>
	7. <i>Proteus vulgaris</i>
	8. <i>Salmonella enteritidis</i>
	9. <i>Citrobacter</i>
	10. <i>Klebsiella pneumonia</i>
	11. <i>Mycobacteria</i>
	12. <i>Pseudomonas aeruginosa</i>
	13. <i>Helicobacter pylori</i>
	14. <i>Lactobacillus odontolyticus</i>
Jamur	15. <i>Candida albicans</i>
	16. <i>Cryptococcus neoformans</i>
	17. <i>Aspergillus niger</i>
	18. <i>Fusarium oxysporium</i>
	19. <i>Saccharomyces cerevisiae</i>
	20. <i>Geotrichum candidum</i>
Virus	21. <i>Cladosporium werneckii</i>
	22. <i>Herpes simplex virus</i> tipe 1
	23. <i>Herpes simplex virus</i> tipe 2
	24. <i>Parainfluenza</i> tipe 3
	25. <i>Vaccinia virus</i>
	26. <i>Vesicular stomatitis</i>
	27. <i>Human rhinovirus</i> tipe 2
Protozoa	28. <i>Trypanosoma brucei</i>
	29. <i>Trypanosoma congolense</i>
	30. <i>Trypanosoma vivax</i>

Kandungan alliin bawang putih yang diremas akan segera teroksidasi menjadi allisin dan selanjutnya menjadi deoksi-alliin, DADS (2) dan DATS (7), suatu senyawa anti bakteri (Mabey, *et al.*, 1988), namun tidak mempunyai aktivitas anti-virus (Pizorno dan Murray, 2000). Senyawa-senyawa tersebut dapat mereduksi sistein dalam tubuh mikrobial sehingga mengganggu ikatan disulfida dalam proteinnya. Resep yang mengandung ekstrak bawang putih, baik digunakan sendirian ataupun dengan amphotericin B, dapat melawan infeksi fungi sistemik pada manusia dan meningitis (Howe, 1997). DATS (7) merupakan senyawa yang mempunyai aktivitas anti-bakteri paling kuat (Yin *et al.*, 2002). Senyawa yang dapat menghambat pertumbuhan *Trypanosoma* adalah DADS (6) (Nok *et al.*, 1996).

Anti-kanker

Kanker adalah sekumpulan sel yang pertumbuhannya tidak terkendali dan tidak terorganisasi. Di dalam tubuh, sel kanker membentuk suatu badan

yang disebut tumor. Kanker dapat timbul karena terjadinya mutasi gen. Perubahan sel normal menjadi sel kanker disebut karsinogenesis, yang terdiri atas beberapa tahap, diawali dengan inisiasi kerusakan DNA sampai akhirnya penyebaran sel kanker ke berbagai jaringan (Snustad dan Simmon, 2000).

Bawang putih dapat mencegah terjadinya kanker lambung dan usus secara signifikan. Orang yang secara teratur mencerna bawang putih menunjukkan angka kejadian kanker saluran pencernaan yang lebih rendah (Anonim, 1994; Howe, 1997). Bawang putih dapat menstimulasi sistem kekebalan tubuh. Senyawa kimia dalam umbi ini dapat mendorong aktivitas makrofage dan sel T, serta efektif dalam mengatasi infeksi virus pada saluran pernapasan atas dan melindungi membran sel untuk mencegah rusaknya DNA (Holladay, 1997).

Secara umum, aktivitas anti-kanker umbi bawang putih terjadi melalui dua jalur dasar, yaitu: (i) apoptosis yang menyebabkan kematian sel dan (ii) anti-proliferasi yang menyebabkan terhambatnya pertumbuhan sel kanker. Apoptosis dan anti-proliferasi dapat terjadi melalui berbagai mekanisme molekuler yang melibatkan protein kinase, ion *Ca-channel*, modifikasi hormon steroid, dan unsur-unsur transduksi sel lainnya. Ekstrak AGE mampu menghambat karsinogenesis, sejak stadium awal inisiasi kerusakan DNA sampai stadium akhir. Baik pada jaringan kelenjar payudara, epitel kulit, usus besar, maupun lambung (Borek, 2001).

Umbi bawang putih secara *in vitro* mampu menghambat aktivitas senyawa 12-O-tetradecanoyl-phorbol-13-acetate (TPA). Senyawa ini merupakan promotor tumor dengan meningkatkan metabolisme fosfolipida sel. Secara *in vivo*, pertumbuhan kanker pada kulit tikus terhambat setelah diberi perlakuan ekstrak umbi bawang putih (Nishino *et al.*, 1989). Ekstrak AGE (dosis 10 mg/ml dan 20 mg/ml) dapat menghambat pertumbuhan sel tumor sarkoma tikus mulai 3 hari setelah perlakuan. Penyebaran sel tumor juga dihambat ekstrak tersebut pada dosis 5 mg/ml; 10 mg/ml; dan 20 mg/ml. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak AGE dapat mencegah perkembangan metastasis tumor (Hu *et al.*, 2002).

Senyawa organosulfur dan selenium dalam umbi bawang putih mampu mengikat senyawa karsinogen (Borek, 2001). Aktivitas senyawa anti-kanker ini tidak hanya pada satu atau dua karsinogen dan jaringan tubuh, namun dapat ditemukan pada hampir semua karsinogen dan jaringan tubuh (Milner, 1996). Senyawa organosulfur yang mempunyai aktivitas anti-kanker adalah allisin (3), ajoene (14-15), DAS (8), DADS (6), DATS (7), SAC (4), dan SAMC (27) (Knowles dan Milner, 2001; Anonim, 1997b). Penelitian terbaru menunjukkan senyawa-senyawa tambahan (minor) yang selama ini kurang diperhatikan, secara keseluruhan berafiliasi mencegah kanker (Davis, 1989).

Allisin (3) mampu menghambat pembentukan nitrosamina (karsinogen kuat yang terbentuk di dalam saluran pencernaan (Pizorno dan Murray, 2000). Ajoene (14-15) mampu menginduksi peroksida sel dan mengaktifkan *nuclear factor* κ B

yang akan menyebabkan sel kanker leukemia mengalami apoptosis. Kadar ajoene (14–15) yang memberikan efek tersebut pada kultur *in vitro* sel kanker promyeleukemia adalah 10–40 μM . Efek akan muncul 20 jam setelah perlakuan (Dirsch *et al.*, 1998).

Perlakuan intraperitoneal DADS (6) dengan dosis 1–2 mg sebanyak 3 kali seminggu secara signifikan menghambat aktivitas sel kanker payudara, KPL-1. Secara *in vitro*, perlakuan tersebut dapat menyebabkan penurunan proliferasi sel kanker. DADS (6) pada konsentrasi 1,8–18,1 μM , dapat menyebabkan apoptosis sel kanker setelah diinkubasi 72 jam (Nakagawa *et al.*, 2001). Selain itu, DADS (6) pada kadar 11,5–23 $\mu\text{mol/L}$ mampu menghambat proliferasi sel kanker kolon dan mengaktifkan NAG-1, yaitu gen proapoptosis dan anti-tumor (Bottone *et al.*, 2002). DADS (6) menginduksi apoptosis sel kanker melalui penghambatan aktivitas protein *p34^{cdc2}-kinase* dengan fosforilasi dan konformasi pada *cyclin B₁* (Knowles dan Milner, 2000). DADS (7) dapat mengurangi penyebaran sel kanker dalam paru-paru. Senyawa ini sangat efektif dalam mereduksi pertumbuhan sel karsinoma paru-paru (Anonim, 1997b).

Senyawa SAC (4) dan SAMC (27), pada kadar 200 $\mu\text{mol/L}$, dapat mempengaruhi siklus sel, fase G₂-M, yang pada akhirnya akan menginduksi apoptosis sel. Perlakuan SAC (4) dan SAMC (27) juga meningkatkan aktivitas *caspase-3-like*, enzim yang berperan sebagai media apoptosis sel. Pada dosis yang sama, dua senyawa tersebut menginduksi sintesis GSH, tripeptidatiol yang melindungi sel dari kerusakan akibat radikal bebas. Seluruh efek yang ditimbulkan SAC (4) dan SAMC (27) mulai muncul 24 jam setelah perlakuan (Shirin *et al.*, 2001). Di samping kegunaan di atas, umbi bawang putih dapat menyebabkan vasodilatasi pada pembuluh darah paru-paru, sehingga dapat memperlancar pertukaran udara dan aliran pernafasan (Kaye *et al.*, 2000). Umbi bawang putih juga dapat dimanfaatkan untuk anti-asma dan anti-batuk, anti-helminik (terutama cacing *Ascaris lumbricoides*), anti-moluska, dan terapi untuk penderita anemia sel sabit (Pizorno dan Murray, 2000; Singh dan Singh 2000; Takasu *et al.*, 2002).

Toksisitas dan efek samping

Beberapa literatur menyatakan adanya efek negatif konsumsi bawang putih, namun sebagian besar tidak memiliki bukti yang cukup, hanya berupa studi awal, studi kasus atau studi epidemiologi (Jesse *et al.*, 1997). Dugaan diet bawang putih terkait dengan kanker mulut tidak benar, mengingat bawang putih bersifat anti kanker. Kanker tersebut merupakan akibat cara menyikat gigi untuk menghilangkan bau menyengat yang salah (Kabat *et al.*, 1989). Salah satu kajian ilmiah dengan bukti cukup mengenai efek negatif bawang putih adalah kajian hepatosit pada tikus. Penelitian menunjukkan bahwa ekstrak bawang putih sangat bernilai untuk detoksifikasi dan antioksidasi pada kadar 1 mM, namun pada kadar 5

mM secara nyata dapat menurunkan viabilitas sel, mengubah morfologi sel, dan menurunkan aktivitasnya (Sheen *et al.*, 1996).

Umbi bawang putih aman untuk dikonsumsi manusia pada takaran normal, yakni kurang dari tiga umbi per hari. Pada takaran tersebut, toksisitas dan efek samping konsumsi umbi bawang putih belum ada. Bahkan untuk wanita hamil dan menyusui, umbi bawang putih tidak menunjukkan efek negatif. Pada kasus yang jarang terjadi, bawang putih dapat menyebabkan alergi (Pizorno dan Murray, 2000; Yarnell, 1999; Lemiere *et al.*, 1996; Delaney dan Donnely, 1996; Burden *et al.*, 1994). Bawang putih juga tidak berefek negatif terhadap sekresi enzim pencernaan (Sharatchandra *et al.*, 1995). Efek positif konsumsi bawang putih jauh lebih tinggi dibandingkan efek negatifnya. Penelitian-penelitian terbaru menunjukkan bawang putih merupakan obat mujarap untuk meningkatkan vitalitas tubuh bagaikan ginseng (Jesse *et al.*, 1997).

KESIMPULAN

Umbi bawang putih dapat dimanfaatkan secara tradisional untuk mengobati tekanan darah tinggi, gangguan pernafasan, sakit kepala, ambeien, sembelit, luka memar atau sayat, cacingan, insomnia, kolesterol, flu, gangguan saluran kencing, dan lain-lain. Sedangkan berdasarkan penelitian-penelitian ilmiah yang telah dilakukan, umbi bawang putih dapat digunakan sebagai obat anti-diabetes, anti-hipertensi, anti-kolesterol, anti-aterosklerosis, anti-oksidan, anti-agregasi sel platelet, pemacu fibrinolisis, anti-virus, anti-mikrobia, dan anti-kanker. Senyawa bioaktif utama bawang putih adalah alliin, allisin, ajoene, kelompok allil sulfida, dan allil sistein. Efek samping dan toksisitas bawang putih tidak ditemukan sehingga, aman untuk dikonsumsi.

DAFTAR PUSTAKA

- Aaron, C. 1996. Garlic and life. *The North American Review* 281: 14-24.
- Agarwal, K.C. 1996. Therapeutic actions of garlic constituents. *Medicinal Research Reviews* 16: 111-124.
- Amagase, H., B.L. Petesch, H. Matsuura, S. Kasuga, and Y. Itakura. 2001. Intake of garlic and bioactive components. *Journal of Nutrition* 131 (3): 955S– 962S.
- Anonim. 1994. Pressing garlic for possible health benefits. *Tufts University Diet and Nutrition Letter* 12: 3-7.
- Anonim. 1997a. *Health Benefits and Folklore*. <http://www.ibs.net/garlic/health.html>
- Anonim. 1997b. *Garlic Slows Growth of Lung Cancer Cells*. <http://www.hhdev.psu.edu/research/lung.htm>
- Apitz-Castro, R., S. Cabrera, M.R. Cruz, E. Ledezma, and M.K. Jain. 1983. Effects of garlic extract and of three pure components isolated from it on human platelet aggregation, arachidonate metabolism, release reaction and platelet ultrastructure. *Thrombine Research* 32 (2): 155-159.
- Augusti, K.T. 1975. Studies on the effect of alliin (diallyl disulphideoxide) on alloxan diabetes. *Experientia* 31 (11): 1263-1265.

- Banerjee, S. K. and S. K. Maulik. 2002. Effect of garlic on cardiovascular disorders: a review. *Nutrition Journal* 1 (4): 1–14.
- Barnes, J. 2002. Herbal therapeutics: hyperlipidaemia. *The Pharmaceutical Journal* 269. Agustus: 193–195.
- Becker, C.A. and R.C. Bakhuizen van den Brink. *Flora of Java*. Volume: 1. Netherlands: N.V.P. Nordhoff.
- Berthold, K.H., T. Sudhop, K. von Bergmann. 1998. Effect of a garlic oil preparation on serum lipoproteins and cholesterol metabolism: a randomized controlled trial. *JAMA* 279 (23): 1900–1902.
- Bordia, A., S.K. Verma, and K.C. Srivastava. 1996. Effect of garlic on platelet aggregation in humans: A study in healthy subjects and patients with coronary artery disease. *Prostaglandins, Leukotrienes, and Essential Fatty Acids* 55: 201–205.
- Borek, C. 2001. Antioxidant health effects of aged garlic extract. *Journal of Nutrition* 131: 1010S–1015S.
- Bottone Jr, F.G., S.J. Baek, J. B. Nixon, and T.E. Eling. 2002. Diallyl disulfide (DADS) induces the antitumorigenic NSAID-activated gene (NAG-1) by a p53-dependent mechanism in human colorectal HCT 116 cells. *Journal of Nutrition* 132: 773–778.
- Breithaupt-Grogler, K., M. Ling, H. Boudoulas, and G.G. Belz. 1997. Protective effect of chronic garlic intake on elastic properties of aorta in the elderly. *Circulation* 96 (8): 2649–2655.
- Budhi, M. 1994. Tahap-tahap pengembangan obat tradisional. *Majalah Kedokteran Udayana*. 5: 107–113.
- Burden A.D., S.M. Wilkinson, M.H. Beck and R.J. Chalmers. 1994. Garlic-induced systemic contact dermatitis. *Contact Dermatitis* 30: 299–300.
- Campbell, J.H., J.L. Efendy, N.J. Smith, and G.R. Campbell. 2001. Molecular basis by which garlic suppresses atherosclerosis. *Journal of Nutrition* 131: 1006S–1009S.
- Challem, J. 1995. *The Wonders of Garlic*. <http://www.jrthorns.com/Challem/garlic.html>
- Dahanukar, S.A., R.A. Kulkarni, and N.N. Rege. 2000. Pharmacology of medicinal plants and natural products. *Indian Journal of Pharmacology* 32: S81–S118.
- Davis D.L. 1989. Natural anticarcinogens, carcinogens, and changing patterns in cancer: Some speculation. *Environmental Research* 50: 322–340.
- Delaney, T.A. and A.M. Donnelly. 1996. Garlic dermatitis. *Australian Journal of Dermatology* 37: 109–110.
- Dirsch, V. M., A. L. Gerbes, and A. M. Vollmar. 1998. Ajoene, a compound of garlic, induces apoptosis in human promyeloleukemic cells, accompanied by generation of reactive oxygen species and activation of nuclear factor κ B. *Molecular Pharmacology* 53: 402–407.
- Dobelis, I. 1990. *Reader's Digest Magic and Medicine of Plants*. New York: The Reader's Digest Association, Inc.
- Dreidger, S. 1996. Ode to garlic: The stinky rose can be good for you. *Maclean's* 109: 62–64.
- Ellmore, G. and R. Feldberg. 1994. Alliin lyase localization in bundle sheaths of garlic clove (*Allium sativum*). *American Journal of Botany* 81: 89–95.
- Foushee, D.B., J. Rufin, and U. Banerjee. 1982. Garlic as a natural agent for treatment of hypertension: a preliminary report. *Cytobios*. 34: 145–152.
- Gupta, N. and T.D. Porter. 2001. Garlic and garlic-derived compounds inhibit human squalene monooxygenase. *Journal of Nutrition* 131: 1662–1667.
- Holladay, S. 1997. *Garlic: The Great Protector*. <http://www.botanical.com/botanical/article/garlic.html>
- Howe, L. 1997. *Great Garlic: A Miracle Right Under Our Noses*. <http://wellweb.com/ALTERN/column/garlic.htm>
- Hu, X., B.N. Cao, G. Hu, J. He, D.Q. Yang, and Y.S. Wan. 2002. Attenuation of cell migration and induction of cell death by aged garlic extract in rat sarcoma cells. *International Journal of Molecular Medicine* 9: 641–643.
- Imai, J., N. Ide, S. Nagae, T. Moriguchi, H. Matsuura, and Y. Itakura. 1994. Antioxidant and radical scavenging effects of aged garlic extract and its constituents. *Planta Medica* 60 (5): 417–420.
- Ishikawa, K., R. Naganawa, H. Yoshida, N. Iwata, H. Fukuda, T. Fujino, and A. Suzuki. 1996. Antimutagenic effects of ajoene, an organosulfur compound derived from garlic. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry* 60: 2086–2088.
- Jesse, J. Mohseni, and N. Shah. 1997. *Medical Attributes of Allium sativum – Garlic*. <http://wilkes1.wilkes.edu/~kklemow/Allium.html>
- Kabat G.C., J.R. Hebert, and E.L. Wynder. 1989. Risk factors for oral cancer in women. *Cancer Research* 49: 2803–2806.
- Kaye, A.D., B.J. De-Witt, M. Anwar, D.E. Smith, C.J. Feng, P.J. Kadowitz, and B.D. Nossoman. 2000. Analysis of responses of garlic derivatives in the pulmonary vascular bed of the rat. *Journal of Applied Physiology* 89: 353–358.
- Kim, M.Y., S.W. Choi, and S. K. Chung. 2002. Antioxidative flavonoids from the garlic (*Allium sativum* L.) shoot. *Food Science and Biotechnology* 9 (4): 199–203.
- Knowles, L. M. and J. A. Milner. 2001. Possible mechanism by which allyl sulfides suppresses neoplastic cell proliferation. *Journal of Nutrition* 131: 1061S–1066S.
- Knowles, L. M. and J. A. Milner. 2000. Diallyl disulfide inhibits p34^{cdc2} kinase activity through changes in complex formation and phosphorylation. *Carcinogenesis* 21 (6): 1129–1134.
- Koya, D. and G.L. King. 1998. Perspectives in diabetes: protein kinase activation and the development of diabetic complications. *Diabetes* 49: 859–866.
- Lawson, L.D., D.K. Ransom, and B.G. Hughes. 1992. Inhibition of whole blood platelet-aggregation by compounds in garlic cloves extracts and commercial garlic products. *Thrombosis Research* 65 (2): 141–156.
- Lee, K.H., H.K. Wang, H. Itokawa, and S.L. Morris-Natschke. 2000. Current perspectives on chinese medicines and dietary supplements in China, Japan and the United States. *Journal of Food and Drug Analysis* 8 (4): 219–228.
- Lemiere, C., A. Cartier, S.B. Lehrer and J.L. Malo. 1996. Occupational asthma caused by aromatic herbs. *Allergy* 51: 647–649.
- Mabey, R., M. McIntyre, P. Michael, G. Duff and J. Stevens. 1988. *The New Herbalist*. New York: Macmillan.
- Maher, J. Timothy. 2000. Alpha-lipoic acid and Co-Q10 in diabetes mellitus. *Natural Healing Track*. Juli: 2–7.
- Marieb, E.N. 1997. *Human Anatomy and Physiology*. Edisi ke-4. New York: Benjamin/ Cummings Science Publishing.
- Mathew P.T. and K.T. Augusti. 1973. Studies on the effect of allisin (diallyl disulphide-oxide) on alloxan diabetes: I. Hypoglycaemic action and enhancement of serum insulin effect and glycogen synthesis. *Indian Journal of Biochemistry and Biophysics* 10: 209–212.
- McMahon, F.G. and R. Vargas. 1993. Can garlic lower blood pressure? a pilot study. *Pharmacotherapy* 13 (4): 406–407.
- Milner, J.A. 1996. Garlic: its anticarcinogenic and antitumorigenic properties. *Nutrition Review* 54 (11): 82–86.
- Naganawa, R., N. Iwata, K. Ishikawa, H. Fukuda, T. Fujino, and A. Suzuki. 1996. Inhibition of microbial growth by ajoene, a sulfur-containing compound derived from garlic. *Applied and Environmental Microbiology* 62: 4238–4243.

- Nakagawa, H., K. Tsuta, K. Kiuchi, H. Senzaki, K. Tanaka, K. Hioki, and A. Tsubura. 2001. Growth inhibitory effects of diallyl disulfide on human breast cancer cell lines. *Carcinogenesis* 22 (6): 891-897.
- Nishino, H., H. Iwashima, Y. Itakura, H. Matsuura, and T. Fuwa. Antitumor-promoting activity of garlic extracts. *Oncology* 46 (4): 277-280.
- Nok, A.J., S. Williams, and P.C. Onyenekwe. 1996. **Allium sativum**-induced death of African trypanosomes. *Parasitology Research* 82: 634-637.
- Ohaeri, O.C. 2001. Effect of garlic oil on the levels of various enzymes in the serum and tissue of streptozotocin diabetic rats. *Bioscience Report* 21 (1): 19-24.
- Ohta, R., N. Yamada, H. Kaneko, K. Ishikawa, H. Fukuda, T. Fujino, and A. Suzuki. 1999. In vitro inhibition of the growth of **Helicobacter pylori** by oil-macerated garlic constituents. *Antimicrobial Agent and Chemistry* 43 (7): 1811-1812.
- Pizorno, J.E. and M.T. Murray. 2000. *A Textbook of Natural Medicine: Allium sativum*. Edisi ke-2. Washington: Bastyr University.
- Prasad, K., V.A. Laxdal, M. Yu, and B.L. Raney. 1996. Evaluation of hydroxyl radical-scavenging property of garlic. *Molecular and Cellular Biology* 154: 55-63.
- Qidwai, W., R. Qureshi, S.N. Hasan, S.I. Azam. 2000. Effect of dietary garlic (**Allium sativum**) on the blood pressure in humans: a pilot study. *Journal of Pakistani Medical Association* 50 (6): 204-207.
- Rahman, K. and D. Billington. 2001. Dietary supplementation with aged garlic extract inhibits ADP-induced platelet aggregation in humans. *Journal of Nutrition* 130: 2662S-2665S.
- Raskin, I., D.M. Ribnicky, S. Komamytsky, N. Ilic, A. Poulev, N. Borisjuk, A. Brinker, D.A. Moreno, C. Ripoll, N. Yakoby, J.M. O'Neal, T. Cornwell, I. Pastor, and B. Fridlender. 2002. Plants and human health in the twenty-first century. *Trends in Biotechnology* 20 (12): 522-531.
- Reeve, V.E., M. Bosnic, E. Rozinova, and C. Boehm-Wilcox. 1993. A garlic extract protects from ultraviolet B (280-320 nm) radiation-induced suppression of contact hypersensitivity. *Photochemistry and Photobiology* 58 (6): 813-817.
- Rukmana, R. 1995. *Budidaya Bawang Putih*. Edisi ke-1. Yogyakarta: Penerbit Kanisius.
- Ryu, K., N. Ide, H. Matsuura, and Y. Itakura. 2001. N-(1-deoxy-D-fructose-1-yl)-L-arginine, an anti-oxidant compound identified in aged garlic extract. *Journal of Nutrition* 131: 972S-976S.
- Santoso, H.B. 2000. *Bawang Putih*. Edisi ke-12. Yogyakarta: Penerbit Kanisius.
- Schwartz, I.F., R. Hershokovitz, A. Iaina, E. Gnessin, Y. Wollman, T. Chernikowski, M. Blum, Y. Levo, and D. Schwartz. 2002. Garlic attenuates nitric oxide production in rat cardiac myocytes through inhibition of inducible nitric oxide synthase and the arginine transporter CAT-2 (cationic amino acid transporter-2). *Clinical Science* 102: 487-493.
- Sharatchandra, J.N.N., K. Platel, and K. Srinivasan. 1995. Digestive enzymes of rat pancreas and small intestine in response to orally administered mint (**Metha spicata**) leaf and garlic (**Allium sativum**). *Indian Journal of Pharmacology* 27: 156-160.
- Sheela, C.G., K. Kumud, and K.T. Augusti. 1995. Anti-diabetic effect of onion and garlic sulfoxide amino acid in rats. *Planta Medica* 61: 356-357.
- Sheen, L.Y., C.K. Lii, S.F. Sheu, R.H. Meng, and S.J. Tsai. 1996. Effect of the Active Principle of Garlic - diallyl sulfide - on cell viability, detoxification capability and the antioxidation system of primary rat hepatocytes. *Food and Chemical Toxicology* 34: 971-978.
- Shirin, H., J. T. Pinto, Y. Kawabata, J. W. Soh, T. Delohery, S. F. Moss, V. Murty, R. S. Rivlin, P. R. Holt, and I. B. Weinstein. 2001. Antiproliferative effects of S-allylmercapto-cysteine on colon cancer cells when tested alone or in combination with sulindac sulfide. *Cancer Research* 61: 725-731.
- Siegel, G., J. Enden, K. Wenzel, J. Mironneau, and G. Stock. 1992. Potassium channel activation in vascular smooth muscle. *Advance Experiment in Medical Biology* 311: 53-72.
- Singh, K. and D.K. Singh. 2000. Effect of different combinations of MGK-264 or piperonyl butoxide with plant-derived molluscicides on snail reproduction. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* 38: 182-190.
- Snustad, D.P., and M.J. Simmons. 2000. *Principles of Genetics*. Edisi ke-2. New York: John Wiley and Sons, Inc.
- Song, K. and J. A. Milner. 1999. Heating garlic inhibits its ability to suppress 7,12-dimethylbenz(a)anthracene-induced DNA adduct formation in rat mammary tissue 1-4. *Journal of Nutrition* 129: 657-661.
- Song, K. and J. A. Milner. 2001. The influence of heating on the anticancer properties of garlic. *Journal of Nutrition* 131: 1054S-1057S.
- Steiner, M. and W. Li. 2001. Aged garlic extract, a modulator of cardiovascular risk factors: a dose-finding study on the effects of AGE on platelet functions. *Journal of Nutrition* 130: 980S-984S.
- Takasu, J., R. Uyikpang, M.A. Sunga, H. Amagase, and Y. Niihara. 2002. Aged garlic extract therapy for sickle cell anemia patients. *BMC Blood Disorders* 2 (3): 1-4.
- Thomas, A.N.S. 2000. *Tanaman Obat Tradisional I*. Edisi ke-13. Yogyakarta: Penerbit Kanisius.
- Torok, B., J. Belagyi, B. Rietz, R. Jacob. 1994. Effectiveness of garlic on the radical activity in radical generating systems. *Arzneimittelforschung* 44 (5): 608-611.
- Yarnell, E. 1999. Garlic: Continuing education module. *Natural Healing Track*. Januari: 2-6.
- Yeh, Y.Y., and L. Liu. 2001. Cholesterol-lowering effects of garlic extracts and organosulfur compounds: human and animal studies. *Journal of Nutrition* 131: 989S-993S.
- Yin, M.C., H.C. Chang, and S.M. Tsao. 2002. Inhibitory effects of aqueous garlic extract, garlic oil and four diallyl sulphides against four enteric pathogens. *Journal of Food and Drug Analysis* 10 (2): 120-126.
- Zhang, X. 1999. *WHO Monographs on Selected Medicinal Plants: Bulbus Allii Sativii*. Geneva: World Health Organization.
- Zhang, X.H., D. Lowe, P. Giles, S. Fell, M. J. Connock, and D. J. Maslin. 2001. Gender may affect the action of garlic oil on plasma cholesterol and glucose levels of normal subjects. *Journal of Nutrition* 131: 1471-1478.

PEDOMAN UNTUK PENULIS

Format penulisan pada nomor ini merupakan acuan utama bagi para penulis, adapun pedoman ini hanya merupakan ringkasannya. Setiap naskah harus disertai surat pengantar yang menyatakan bahwa tulisan merupakan hasil karya penulis atau para penulis dan belum pernah dipublikasikan. Penulis diminta mengirimkan dua kopi naskah dan satu disket ukuran 3½", kecuali naskah yang dikirim melalui e-mail. Pada koreksi terakhir kembali diminta satu disket untuk pencetakan.

Tulisan diketik pada satu sisi kertas putih, ukuran A4 (210x297 mm²), dalam satu kolom, menggunakan spasi ganda, jenis huruf *Times New Roman*, ukuran 12 point, dengan jarak tepi 2 cm di semua sisi. Program pengolah kata atau jenis huruf tambahan dapat digunakan, namun harus *PC compatible* dan berbasis *Microsoft Word*. **Nama ilmiah** (genus, spesies, author), dan kultivar atau strain disebutkan secara lengkap pada penyebutan pertama kali. Nama genus dapat disingkat setelahnya penyebutan yang pertama, kecuali menimbulkan kerancuan. Nama author dapat dihilangkan setelah penyebutan pertama. Misalnya pertama kali ditulis *Rhizopus oryzae* L. UICC 524, selanjutnya ditulis *R. oryzae* UICC 524. Nama daerah dapat dicantumkan apabila tidak menimbulkan makna ganda. Penyebutan nama ilmiah secara lengkap dapat diulang pada bagian Bahan dan Metode. **Tatanama kimia dan biokimia** mengikuti aturan IUPAC-IUB. Simbol-simbol kimia standar dan penyingkatan untuk nama kimia dapat dilakukan apabila jelas dan umum digunakan, misalnya pertama kali ditulis lengkap butirat hidrositoluen (BHT) selanjutnya ditulis BHT. **Ukuran metrik** menggunakan satuan SI, penggunaan satuan lain harus diikuti nilai ekuivalen dengan satuan SI pada penyebutan pertama. Penyingkatan satuan, seperti g, mg, ml, dan sebagainya tidak diikuti titik. Indeks minus (m⁻², l⁻¹, h⁻¹) disarankan untuk digunakan, kecuali dalam hal-hal seperti "per-tanaman" atau "per-plot". **Persamaan matematika** tidak selalu dapat dituliskan dalam satu kolom dengan teks, untuk itu dapat ditulis secara terpisah. **Angka** satu hingga sepuluh dinyatakan dengan kata-kata, kecuali apabila berhubungan dengan pengukuran, sedangkan nilai di atasnya dituliskan dalam angka, kecuali di awal kalimat. Pecahan sebaiknya dinyatakan dalam desimal. Dalam teks digunakan "%" bukannya "persen". Pengungkapan ide dengan kalimat yang rumit dan bertele-tele perlu dihindari, sebaiknya digunakan kalimat yang efektif dan efisien. Naskah hasil penelitian diharapkan tidak lebih dari 25 halaman (termasuk gambar dan tabel), naskah telaah pustaka menyesuaikan, masing-masing halaman berisi 700-800 kata, atau sebanding dengan naskah dalam nomor penerbitan ini.

Judul ditulis secara padat, jelas, dan informatif, maksimum 20 kata. Judul ditulis dalam bahasa Indonesia dan Inggris untuk naskah dalam bahasa Indonesia atau bahasa Inggris saja untuk naskah dalam bahasa Inggris. Naskah yang terlalu panjang dapat dibuat ber seri, tetapi naskah demikian jarang diterbitkan jurnal ini. **Judul pelari** (*running title*) sekitar 5 kata. **Nama penulis** atau para penulis pada naskah kelompok ditulis secara lengkap dan tidak disingkat. **Nama dan alamat institusi** ditulis lengkap dengan nama dan nomor jalan (lokasi), kode pos, nomor telepon, nomor faksimili, alamat e-mail dan website. Pada naskah kelompok perlu ditunjukkan penulis untuk korespondensi beserta alamat dengan urutan seperti di atas. **Abstract** sebaiknya tidak lebih dari 200 kata, ditulis dalam bahasa Indonesia dan Inggris untuk naskah dalam bahasa Indonesia atau bahasa Inggris saja untuk naskah dalam bahasa Inggris. **Kata kunci** (*Keywords*) sekitar 5 kata, meliputi nama ilmiah dan daerah (apabila ada), topik penelitian dan metode-metode khusus yang digunakan. **Pendahuluan** (*Introduction*) sekitar 400-600 kata, meliputi latar belakang, tinjauan pustaka dan tujuan penelitian. **Bahan dan Metode** (*Materials and Methods*) sebaiknya ditekankan pada cara kerja dan cara analisis data. **Hasil dan Pembahasan** (*Results and Discussion*) ditulis sebagai satu rangkaian, pada tulisan yang cukup panjang sebaiknya dibuat beberapa sub judul. Pembahasan merupakan jawaban pertanyaan *mengapa* dan *bagaimana* hasil penelitian dapat terjadi, bukan sekedar mengungkapkan kembali hasil penelitian dalam bentuk kalimat. Pembahasan yang lengkap dan menyeluruh lebih disukai dari pada pembahasan yang tidak tuntas. Naskah telaah pustaka tanpa sub judul Bahan dan Metode, serta Hasil dan Pembahasan. **Kesimpulan** (*Conclusion*) sebaiknya tetap diberikan, meskipun biasanya sudah terungkap pada Hasil dan Pembahasan. **Ucapan terima kasih** (*Acknowledgments*) apabila diperlukan ditulis secara singkat. **Gambar dan Tabel** maksimum 3 halaman, dapat dibuat dengan tinta cina atau printer laser. Judul gambar ditulis di bawah gambar, sedangkan judul tabel ditulis di atas tabel. Foto dicetak pada kertas *glossy* dan diberi keterangan. Gambar berwarna dapat diterima apabila informasi ilmiah dalam naskah dapat hilang tanpa gambar tersebut. Setiap gambar dan foto sebaiknya menyertakan file digital. Penulis dianjurkan

menyertakan foto atau gambar untuk sampul depan, meskipun tidak dimuat dalam naskah sendiri. **Tidak ada lampiran**, semua data atau analisis data dimasukkan dalam Hasil dan Pembahasan.

Pustaka dalam naskah ditulis dalam bentuk nama belakang penulis dan tahun. Pada kalimat yang diacu dari beberapa pustaka. Naskah yang ditulis oleh dua penulis, maka nama keduanya disebutkan, sedang naskah yang ditulis oleh tiga penulis atau lebih, maka hanya nama penulis pertama ditulis diikuti *et al.* atau dkk., misalnya: Sprent dan Sprent (1990) atau (Suranto *et al.*, 1998; Baker and Manwell, 1991; Smith 1982a, b). Pada sitasi bertingkat digunakan kata *cit* atau dalam, misalnya (Gyorgy, 1991 *cit* Coward, 1999) atau Gyorgy (1991, dalam Coward, 1999).

Daftar Pustaka diketik dengan spasi ganda. Sitasi mengikuti CBE-ELSE-Vancouver style dengan modifikasi sebagai berikut:

Jurnal:

Suranto, S., K.H. Gough, D.D. Shukla, and C.K. Pallaghy. 1998. Coat protein sequence of Krish-infected strain of Johnson-grass mosaic potyvirus. *Archives of Virology* 143: 1015-1020.

Buku:

Sprent, J.I. and P. Sprent. 1990. *Nitrogen Fixing Organisms: Pure and Applied Aspects*. London: Chapman and Hall.

Bab dalam buku:

Baker, C.M.A. and C. Manwell. 1991. Population genetics, molecular markers and gene conservation of bovine breeds. In: Hickman, C.G. (ed.). *Cattle Genetic Resources*. Amsterdam: Elsevier Science Publishers B.V.

Abstrak:

Liu, Q., S. Salih, J. Ingersoll, R. Meng, L. Owens, and F. Hammerschlag. 2000. Response of transgenic 'Royal Gala' apple (*Malus x domestica* Borkh.) shoots, containing the modified cecropin MB39 gene to *Erwinia amylovora* [084]. *Abstracts of 97th Annual International Conference of the American Society for Horticultural Science*. Lake Buena Vista, Fla., 23-26 July 2000.

Prosiding:

Alikodra, H.S. 2000. Keanekaragaman hayati bagi pembangunan daerah otonom. Dalam: Setyawan, A.D. dan Sutarno (ed.). *Menuju Taman Nasional Gunung Lawu, Prosiding Semiloka Nasional Konservasi Biodiversitas untuk Perlindungan dan Penyelamatan Plasma Nutfah di Pulau Jawa*. Surakarta, 17-20 Juli 2000.

Skripsi, Tesis, Disertasi:

Purwoko, T. 2001. *Biotransformasi Isoflavon oleh Rhizopus oryzae UICC 524 dan Aktivitas Antioksidan Isoflavon Aglikon dari Tempe terhadap Oksidasi Minyak Kedelai* [Tesis]. Jakarta: Universitas Indonesia.

Informasi dari Internet:

Rosauer, D. 1998. *Forest Disturbance and Succession*. <http://www.anu.edu.au/Forestry/silviculture/daniel/chapter1/1.1.html>

Naskah publikasi "*in press*" dapat disitasi dan dicantumkan dalam daftar pustaka. "Komunikasi pribadi" dapat disitasi, tetapi tidak dapat dicantumkan dalam daftar pustaka. Penelitian yang tidak dipublikasikan atau sedang dalam tahap pengajuan publikasi tidak dapat disitasi.

Beberapa catatan tambahan. Naskah diketik tanpa tanda hubung (-), kecuali kata ulang. Penggunaan huruf "l" (el) untuk "1" (satu) atau "O" (oh) untuk "0" (nol) perlu dihindari. Simbol α , β , χ , dan lain-lain dimasukkan melalui fasilitas insert, bukan mengubah jenis huruf. Kata-kata dan tanda baca sesudahnya tidak diberi spasi.

Kemajuan Naskah. Pemberitahuan naskah dapat diterima atau ditolak akan diberitahukan sekitar satu bulan setelah pengiriman. Naskah dapat ditolak apabila materi yang dikemukakan tidak sesuai dengan misi jurnal, kualitas materi rendah, format tidak sesuai, gaya bahasa terlalu rumit, terjadi ketidakjujuran keaslian penelitian, dan korespondensi tidak ditanggapi. Penulis atau penulis pertama pada naskah kelompok akan mendapatkan satu eksemplar jurnal yang memuat tulisannya selambat-lambatnya sebulan setelah naskah diterbitkan. Penulis akan kembali mendapatkan satu eksemplar jurnal nomor penerbitan berikutnya.

PENTING: Penulis atau para penulis dalam naskah kelompok setuju memindahkan hak cipta (*copyright*) naskah yang diterbitkan *Biofarmasi, Journal of Pharmacological and Biological Sciences* kepada Jurusan Biologi FMIPA UNS Surakarta. Penulis tidak lagi diperkenankan menerbitkan naskah secara utuh tanpa ijin penerbit. Penulis atau pihak lain diperkenankan memperbanyak naskah dalam jurnal ini selama tidak untuk tujuan komersial. Untuk penemuan baru, penulis disarankan mengurus hak patennya sebelum mempublikasikan dalam jurnal ini.

Pertumbuhan Kalus dan Produksi Antrakuinon Mengkudu (<i>Morinda citrifolia</i> L.) pada Media Murashige-Skoog (MS) dengan Penambahan Ion Ca^{2+} dan Cu^{2+} IKA ARININGSIH, SOLICHATUN, ENDANG ANGGARWULAN	39-43
Keanekaragaman Kandungan Minyak Atsiri Rimpang Temu-temuan (<i>Curcuma</i>) • AHMAD DWI SETYAWAN	44-49
Aktivitas Analgetik Ekstrak Umbi Teki (<i>Cyperus rotundus</i> L.) pada Mencit Putih (<i>Mus musculus</i> L.) Jantan • HESTI PUSPITASARI, SHANTI LISTYAWATI, TETRI WIDIYANI	50-57
Potensi Penghambatan Minyak Atsiri dan Ekstrak Kasar Rimpang Lempuyang (<i>Zingiber</i> spp.) terhadap Pertumbuhan <i>Fusarium oxysporum</i> Schlecht f.sp. <i>cubense</i> • PURWANTI, SURANTO, RATNA SETYANINGSIH	58-64
Senyawa Organosulfur Bawang Putih (<i>Allium sativum</i> L.) dan Aktivitas Biologisnya • UDHI EKO HERNAWAN, AHMAD DWI SETYAWAN	65-76

