

**AKTIVITAS ANTIMUTAGENIK EKSTRAK METANOL
RIMPANG LENGKUAS (*ALPINIA GALANGA*) TERHADAP
SEL ERITROSIT DALAM SUMSUM TULANG MENCIT
SECARA *IN VIVO***

SKRIPSI

**Diajukan Kepada Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Negeri Yogyakarta untuk Memenuhi Sebagian Persyaratan
Guna Memperoleh Gelar Sarjana Sains Bidang Kimia**



Oleh:

DIFLA ILFI CHASANAH

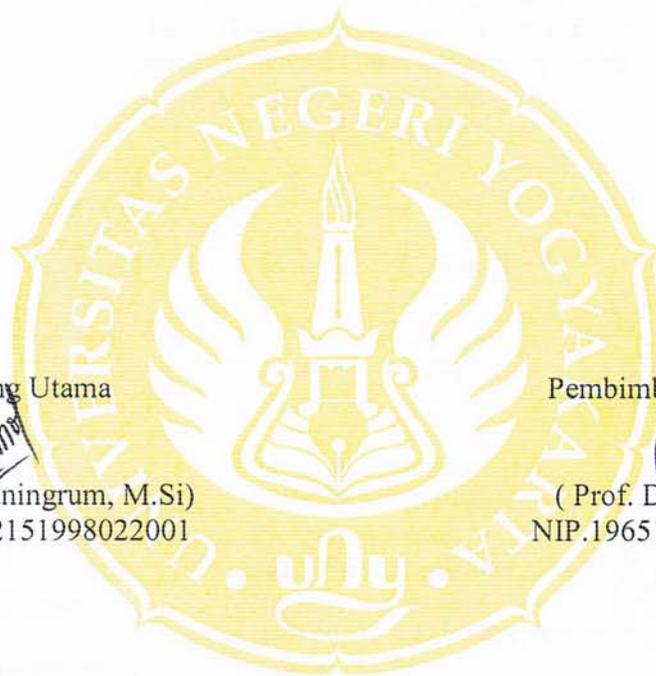
NIM : 08307141012

**PROGRAM STUDI KIMIA
JURUSAN PENDIDIKAN KIMIA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETRAHUAN ALAM
UNIVERSITAS NEGERI YOGYAKARTA
2013**

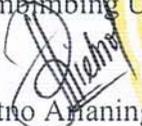
PERSETUJUAN

Skripsi ini Telah memenuhi Persyaratan
dan Siap Untuk Diuji

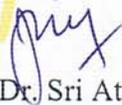
Disetujui pada Tanggal
.....



Pembimbing Utama


(Retno Arianingrum, M.Si)
NIP.196812151998022001

Pembimbing Pendamping


(Prof. Dr. Sri Atun)
NIP.196510121990012001

Koordinator Tugas Akhir Skripsi
Program Studi Kimia

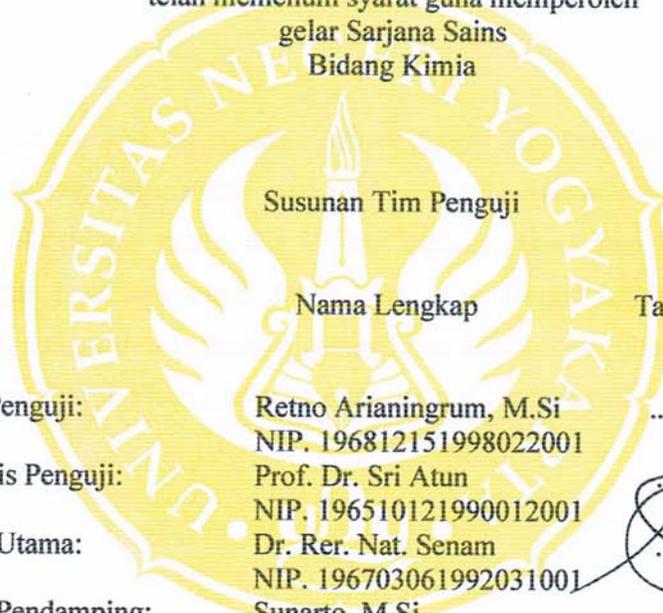

(Dr. Endang Widjajanti LFX)
NIP. 196212031986012001

PENGESAHAN

Aktivitas Antimutagenik Ekstrak Metanol Rimpang Lengkuas
(*Alpinia galanga*) terhadap Sel Eritrosit dalam Sumsum Tulang Mencit
secara *in Vivo*

Yang dipersiapkan dan disusun oleh:
Difla Ilfi Chasanah
NIM. 08307141012

Telah dipertahankan di depan Tim Penguji Skripsi
Fakultas matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas negeri Yogyakarta
Pada Tanggaldan dinyatakan
telah memenuhi syarat guna memperoleh
gelar Sarjana Sains
Bidang Kimia



Susunan Tim Penguji

Nama Lengkap

Tanda Tangan

Ketua Penguji:	Retno Arianingrum, M.Si NIP. 196812151998022001
Sekretaris Penguji:	Prof. Dr. Sri Atun NIP. 196510121990012001
Penguji Utama:	Dr. Rer. Nat. Senam NIP. 196703061992031001
Penguji Pendamping:	Sunarto, M.Si NIP. 19610608198812 1 001

.....
.....
.....
.....

Yogyakarta,
Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Univrsitas Negeri Yogyakarta
Dekan

Dr. Hartono
NIP. 196203291987021002

PERNYATAAN

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Difla Ilfi Chasanah
NIM : 08307141012
Program Studi : Kimia
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Judul Penelitian : Aktivitas Antimutagenik Ekstrak Metanol Rimpang
Lengkuas (*Alpinia galanga*) terhadap Sel Eritrosit secara *In vivo*

Dengan ini saya menyatakan bahwa skripsi nini benar-benar karya saya sendiri. Sepanjang pengetahuan saya tidak terdapat karya atau pendapat yang ditulis atau diterbitkan orang lain kecuali dengan acuan atau kutipan dengan mengikuti tata penulisan karya ilmiah yang telah lazim. Tanda tangan dosen penguji yang tertera dalam halaman pengesahan adalah asli. Jika tidak asli saya siap menerima sanksi dituda yudisium pada periode berikutnya.

Yogyakarta,

Yang menyatakan,

Difla Ilfi Chasanah

NIM. 08307141012

MOTTO

“Wattaqullaah wa yu’alimukumullaah, wallaahu bikulli syai-in ‘aliim.”

“Bertakwalah pada Allah maka Allah akan mengajarimu. Sesungguhnya Allah Maha Mengetahui segala sesuatu”

(Q.S. Al-Baqarah: 282)

“Sesungguhnya sesudah kesulitan itu ada kemudahan. Maka apabila kamu telah selesai (dari satu urusan) kerjakanlah dengan sungguh-sungguh urusan yang lain. Dan hanya kepada Tuhanmulah hendaknya kamu berharap”

(Q.S. Al-Insyiroh: 5-8)

“Hati suci selalu benar, tetapi gejolak hati selalu mengubah hasrat hati suci. Orang yang ada dalam hati suci adalah orang yang taqwa dan beriman. Itulah tantangan hidup”

PERSEMBAHAN

Dengan berucap syukur kepada Allah SWT yang telah memberikan rahmat dan ridhoNya sehingga skripsi ini dapat terselesaikan.

Kupersembahkan skripsi ini untuk:

Ibu dan Ayahku yang tiada hentinya memberikan do'a restu serta kasih sayang tulus ikhlas.

Ibu Retno dan Ibu Atun yang senantiasa membimbing dan mengarahkan hingga skripsi ini terselesaikan.

Ibu Endang Dwi Siswani yang telah memberikan motivasi dalam proses mengerjakan skripsi sehingga skripsi ini dapat berjalan lancar.

Ibu Mona Airin selaku dosen FKH UGM yang telah membimbing dan membantu dalam penelitian ini.

Bapak Wasino selaku teknisi LPPT UGM yang telah membimbing serta membantu selama penelitian.

Nanang Arifin yang telah memberi motivasi, saran serta membantu berdiskusi mengenai skripsi ini.

Sahabat-sahabat (Aziz, Hesi, Ifah, Ridho, Rimma, Senja, Teh Endah, Teh Leli) menjadi bagian suka duka selama ini.

Keluarga Besar Kimia Reguler 2008, terimakasih telah atas pengalaman dan waktu yang dilalui bersama.

Keluarga Besar Civitas Akademika UNY

KATA PENGANTAR

Alhamdulillah, puji syukur penulis panjatkan kehadiran Allah SWT atas segala rahmat, hidayah serta limpahan kasih dan anugerah-Nya sehingga skripsi dengan judul “Aktivitas Antimutagenik Ekstrak Metanol Rimpang Lengkas (*Alpinia galanga*) terhadap sel Eritrosit dalam Sumsum Tulang Mencit secara *In Vivo*” ini telah diselesaikan dengan baik.

Penulis menyadari bahwa dalam menyelesaikan skripsi ini tidak terlepas dari dukungan, bimbingan, saran dan bantuan dari berbagai pihak. Oleh karena itu, pada kesempatan ini penulis mengucapkan terimakasih kepada:

1. Prof. Dr. Sri Atun selaku Dosen Pembimbing Pendamping.
2. Prof. Dr. Sri Atun selaku Dosen Pembimbing Pendamping.
3. Dr. Rer. nat. Senam selaku Dosen Penguji Utama.
4. Sunarto, M.Si selaku Dosen Penguji Pendamping.
5. Kedua orangtua yang senantiasa memberikan motivasi dan do'a sehingga skripsi dapat berjaan dengan baik dan lancar.
6. Dr. Hartono selaku Dekan FMIPA Kimia Universitas Negeri Yogyakarta.
7. Dr. Hari Sutrisno selaku Ketua Jurusan Pendidikan Kimia FMIPA Universitas Negeri Yogyakarta.
8. Eli Rohaeti, M.Si selaku Sekretaris Ketua Jurusan Pendidikan Kimia FMIPA Universitas Negeri Yogyakarta.
9. Endang Wijayanti LFX selaku koordinator Tugas Akhir Skripsi Kimia FMIPA Universitas Negeri Yogyakarta dan selaku Koordinator Tugas akhir Skripsi kimia.
10. Diah purwaningsih, M.Si selaku Dosen Pembimbing Akademik.
11. Seluruh Dosen dan staff Jurusan Pendidikan Kimia FMIPA Universitas Negeri Yogyakarta.
12. Laboran laboratorium Kimia FMIPA Universitas Negeri Yogyakarta.

DAFTAR ISI

HAIAMAN JUDUL	i
HALAMAN PERSETUJUAN	ii
HALAMAN PENGESAHAN	iii
HALAMAN PERNYATAAN	iv
MOTTO	v
HALAMAN PERSEMBAHAN	vi
KATA PENGANTAR	vii
DAFTAR ISI	viii
DAFTAR TABEL	x
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR LAMPIRAN	xii
DAFTAR ISTILAH	xiii
ABSTRAK	xv
ABSTRACT	xvi
BAB I PENDAHULUAN	
A. Latar Belakang Masalah	1
B. Identifikasi Masalah	4
C. Pembatasan Masalah	4
D. PerumusanMasalah	5
E. Tujuan Penelitian	5
F. Manfaat Penelitian	5
BAB II KAJIAN PUSTAKA	
A. Deskripsi Teori.....	7
1. Lengkuas (<i>Alpinia galanga</i>).....	7
2. Eritrosit.....	10
3. Mutasi	11
4. Aktivitas Antimutagenik	14
B. Penelitian yang Relevan.....	15
C. Kerangka Berpikir.....	17

BAB III METODE PENELITIAN

A. Subjek dan Objek Penelitian	19
1. Subjek Penelitian.....	19
2. Objek Penelitian	19
B. Variabel Peneliiian	19
1. Variabel Bebas	19
2. Variabel Terikat	19
C. Alat dan Bahan.....	20
1. Alat	20
2. Bahan.....	20
D. Metode Pengumpulan Data.....	21
E. Prosedur Penelitian.....	22
1. Pembuatan Bahan Uji.....	22
a. Pembuatan Ekstrak metanol	22
b. Pembuatan Larutan Na-CMC 1%	22
c. Pembuatan Siklofosamid Dosis 50 mg/kg bb dalam Air Steril	23
d. Pembuatan Sediaan Bahan Uji	23
2. Perlakuan Pada Hewan Uji.....	24
3. Pembuatan Preparat Apus Sumsum Tulang Mencit	26
F. Teknik Analisis Data	27
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	
A. Hasil Penelitian	29
B. Pembahasan.....	29
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	
A. Kesimpulan	39
B. Saran.....	39
DAFTAR PUSTAKA	40
LAMPIRAN.....	42

DAFTAR TABEL

Tabel 1. Pembagian Kelompok dan Perlakuan Terhadap Hewan Uji	21
Tabel 2. Perlakuan Pada Hewan Uji	25
Tabel 3. Rerata Jumlah Sel Eritrosit Polikromatik Bermikronukleus atau MNPCE (micronucleus polichromatic cell erythrocyte) pada Preparat Apus Sumsum Tulang Mencit	29

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Struktur DNA	1
Gambar 2. Tumbuhan Lengkuas	9
Gambar 3. Beberapa Senyawa yang Terkandung dalam Lengkuas	11
Gambar 4. Fase Pembentukn Eritrosit	8
Gambar 5. Skema Perlakuan Terhadap Hewan Uji	26
Gambar 6. Pembentukan Mikronukleus dari Kromosom yang Tertinggal pada Tahap Anafase.I	30
Gambar 7. Sel Eritrosit Polikromatik atau PCE (policromatic cell erythrocyte)	31
Gambar 8. Struktur Kimia Siklofosamid	32
Gambar 9. Rumus Struktur Na-CMC.....	32
Gambar 10. Gambar Mikroskopis Sel Eritrosit Normal Kelompok I dengan Perbesaran 100X	33
Gambar 11. Gambar Mikroskopis MNPCE Kelompok II / Kontrol Positif dengan Perbesaran 100 X	34
Gambar 12. Mekanisme Siklofosamid Mengalkilasi Sel	35
Gambar 13. Gambar Mikroskopis Sel Eritrosit Normal Kelompok III dengan Perbesaran 100X	36
Gambar 14. Gambar Mikroskopis MNPCE Kelompok IV dengan Perbesaran 100X	37
Gambar 15. Gambar Mikroskopis MNPCE Kelompok V dengan Perbesaran 100X	37

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran I	Pembuatan Bahan Uji.....	42
Lampiran II	Pembuatan Preparat Apus sumsum Tulang Belakang	45
Lampiran III	Tabel Berat Badan Mencit dan Banyaknya Bahan Uji yang diberikan.....	46
Lampiran IV	Tabel Jumlah MNPCE	47
Lampiran V	Perhitungn Prosentse Penurunan Jumlah MNPCE.....	48
Lampiran VI	Dokumentasi.....	49

DAFTAR ISTILAH

- 1 Ad- libitum : Cara pemberian minuman pada hewan uji dengan memasukkan air ke dalam suatu botol dengan penutup khusus. Botol kemudian diberikan dengan posisi terbalik dan air hanya akan keluar jika dijilat oleh hewan uji.
- 2 Delesi : Mutasi kromosom dimana sebagian dari kromosom menghilang.
- 3 Diferensiasi : Perubahan yang terjadi dari keadaan sejumlah sel, membentuk organ-organ yang mempunyai struktur dan fungsi yang berbeda.
- 4 DNA : Rantai dobel heliks berpilin yang terdiri atas polinukleotida.
- 5 Fiksasi : Proses perubahan zat –zat dalam sel menjadi komponen yang tidak larut yang dilakukan dengan cara merendam preparat dalam fiksasi dengan tujuan untuk mengawetkan struktur fisik, sifat morfologi, dan kimia jaringan serta untuk mencegah terjadinya autolysis.
- 6 Gen : Unit pewarisan sifat bagi organisme hidup.
- 7 Kromosom : Suatu struktur makromolekulyang berisi DNA dimn informasi genetik dalam sel disimpan.
- 8 Intraperitoneal : Jalur pemberian kepada hewan uji secara injeksi melalui rongga perut.
- 9 Mikronukleus : Fragmen kromosom atau kromosom utuh yang tertinggal dalam sitoplasma selama mitosis.
- 10 MNPCE : micronucleus polichromatic cell erythrocyte (MNPCE) yaitu Sel eritrosit polikromatik bermikronukleus.
- 1 Nukleotida : Molekul yang terdiri dari nukleosida yang mengikat asam fosfat. Molekul nukleosida terdiri atas pentosa (deoksiribosa atau ribosa) yang mengikat suatu basa (purin atau pirimidin)
- 12 Pelet 789 : Salah satu jenis makanan berupa pelet yang diberikan pada

- hewan uji.
- 13 Peroral : Jalur pemberian kepada hewan uji melalui mulut.
 - 14 Rimpang : Sebuah bentuk modifikasi batang tanaman yang biasanya menjalar di dalam tanah dan dapat menghasilkan tanaman baru dari ruasnya.
 - 15 Suspensi : Sediaan cair yang mengandung partikel padat tidak larut yang terdispersi dalam fase cair.

**AKTIVITAS ANTIMUTAGENIK EKSTRAK METANOL RIMPANG
LENGKUAS (*ALPINIA GALANGA*) TERHADAP SEL ERITROSIT
DALAM SUMSUM TULANG MENCIT SECARA *IN VIVO***

Oleh:

**DIFLA ILFI CHASANAH
NIM.08307141012**

**Pembimbing utama : Retno Arianingrum, M.Si
Pembimbing Pendamping : Prof. Dr. Sri atun**

ABSTRAK

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui persentase aktivitas antimutagenik ekstrak metanol rimpang lengkuas (*Alpinia galanga*) terhadap sel eritrosit dalam sumsum tulang mencit secara *in vivo*.

Penelitian ini dilakukan menggunakan uji mikronukleus dengan memberikan perlakuan terhadap mencit jantan galur Balb-c yang berumur 6-7 minggu dengan berat berkisar antara 33,4 – 34 gram. Perlakuan dilakukan dengan pemberian ekstrak lengkuas dosis 300 mg/kg bb dan 600 mg/kg BB secara peroral, sebagai kontrol negatif diberikan Na-CMC dosis 50 mg/kg bb secara peroral, dan sebagai kontrol positif diberikan siklofosamid dosis 50 mg/kg bb secara intraperitoneal. Perlakuan dilakukan selama 2 hari, kemudian pada hari ke-2 tepatnya 6 jam setelah pemberian siklofosamid yang ke-2 semua mencit dikorbankan secara dislokasi leher dan dibedah untuk diambil sumsum tulang pahunya. Sumsum tulang dibuat preparat apus untuk diamati jumlah sel polikromatik bermikronukleus atau *micronucleus polychromatic cells erythrocytes* (MNPCE).

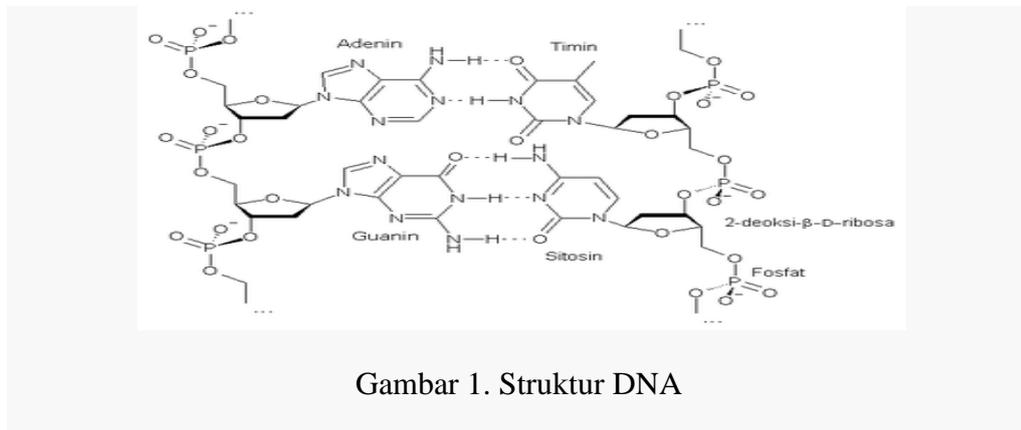
Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak metanol rimpang lengkuas memiliki aktivitas antimutagenik. Hal tersebut ditunjukkan dengan persentase penurunan MNPCE pada preparat apus. Ekstrak dengan dosis 300 mg/kg bb mampu menurunkan jumlah MNPCE sebesar 77,267%, sedangkan ekstrak dengan dosis 600 mg/kg bb mampu menurunkan jumlah MNPCE sebesar 63,630% jika dibandingkan dengan kontrol positif.

BAB 1

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang Masalah

Asam deoksiribonukleat atau *deoxyribonucleic acid* (DNA), adalah sejenis asam nukleat yang tergolong biomolekul utama penyusun berat kering setiap mikroorganisme. Di dalam sel, DNA (gambar 1) terletak di dalam intisel. Peran DNA sebagai pembawa materi genetik akan menentukan struktur protein yang dikodinya.



Gambar 1. Struktur DNA

DNA merupakan polimer yang terdiri dari tiga komponen utama, yaitu gugus fosfat, gula deoksiribosa, dan basa nitrogen. Basa nitrogen tersebut terdiri dari adenin (A), guanina (G), sitosina (S), dan timina (T) (Saefudin, 2007:5).

Mutasi merupakan suatu perubahan yang terjadi pada urutan basa dari suatu gen, yang dapat menyebabkan perubahan pada produk yang dikode oleh gen tersebut. Mutasi dapat dikaitkan dengan timbulnya beragam kelainan, termasuk penyakit kanker. Selain dapat terjadi secara spontan, mutasi juga dapat diinduksi

oleh berbagai faktor seperti radiasi, senyawa kimia tertentu, dan virus. Faktor-faktor penginduksi mutasi dikenal sebagai mutagen. Salah satu indikator terjadinya mutasi adalah adanya mikronukleus.

Mikronukleus merupakan hasil mutasi dari kromosom utuh yang patah dan kemudian tampak sebagai nukleus berukuran kecil di dalam suatu sel eritrosit. Mikronukleus mudah diamati pada sel polikromatik eritrosit atau PCE. Jumlah sel eritrosit polikromatik bermikronukleus atau MNPCE menunjukkan tingkat kerusakan genetik dalam sistem eritropoetik suatu makhluk hidup.

Banyaknya penggunaan bahan kimia untuk berbagai keperluan mengakibatkan peningkatan pencemaran bahan-bahan kimia berbahaya ke dalam lingkungan hidup. Penelitian toksikologi memberikan informasi bahwa sebagian besar bahankimia bersifat mutagenik. Meskipun dalam tubuh sudah dilengkapi berbagai mekanisme pertahanan terhadap mutagen, peningkatan paparan terhadap bahan-bahan kimia tersebut dapat meningkatkan peluang terjadinya mutasi. Oleh karena itu diperlukan suatu zat antimutagenik yang dapat mengurangi risiko terjadinya mutasi oleh mutagen (Didi Jauhari Purwadiwarsa, dkk. 2000: 18)

Upaya pencarian zat antimutagenik dari bahan alam perlu dilakukan, hal tersebut dikarenakan penggunaan bahan alam sebagai antimutagen memiliki efek samping yang relatif rendah serta efek farmakologi yang sesuai untuk penyakit-penyakit metabolik dan *degenerative* (Maksum Radji, Atiek Sumiarti&Nuning Indani, 2004:2).

Tumbuhan keluarga temu-temuan (*zingiberaceae*) seperti lengkuas memiliki potensi untuk mengurangi terjadinya mutasi yang menyebabkan berbagai penyakit

terutama kanker. Oleh karena itu penelitian ini bertujuan untuk mengetahui persentase aktivitas antimutagenik ekstrak metanol rimpang lengkuas (*Alpinia galanga*) terhadap sel eritrosit mencit secara *in vivo*. Pemilihan rimpang lengkuas tersebut berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan oleh Herla Rusmalin (2003:4&6) menunjukkan bahwa lengkuas yang diekstraksi dengan etil asetat mengandung senyawa kimia 1-asetoksikhavikol asetat atau 1-*acetoxy chavicol acetate* (ACA), yang berpotensi menghambat pertumbuhan sel kanker yang disebabkan oleh transplantasi sel tumor primer, diukur berdasarkan jumlah sel yang hidup dalam kultur dengan hemositometer. Kadar ACA tertinggi diperoleh dari rimpang lengkuas merah lokal (*Alpinia galanga* (L) Sw) yang berumur 9 bulan.

Penelitian ini menggunakan metode mikronukleus yaitu salah satu metode uji antimutagenik, yang dilakukan dengan mengamati jumlah MNPCE dari preparat apus sumsum tulang hewan uji yang telah diberi perlakuan dengan ekstrak metanol rimpang lengkuas secara mikroskopik. Sebagai kontrol positif, hewan uji dalam penelitian ini diinduksi menggunakan siklofosfamid. Hewan uji yang digunakan adalah mencit jantan yang berusia 6 sampai 7 minggu dengan berat badan sekitar 34 gram. Dalam penelitian, konsentrasi ekstrak lengkuas yang digunakan sebesar 300 mg/kg bb dan 600 mg/kg bb.

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi tentang manfaat senyawa bioaktif yang terkandung dalam ekstrak metanol rimpang lengkuas sebagai senyawa antimutagenik.

B. Identifikasi Masalah

Dari latar belakang yang telah diuraikan, maka dapat diidentifikasi beberapa masalah sebagai berikut :

1. Spesies tumbuhan lengkuas yang diteliti mempengaruhi aktivitas antimutagenik.
2. Bagian tumbuhan yang diekstraksi mempengaruhi aktivitas antimutagenik.
3. Metode uji aktivitas antimutagenik yang digunakan mempengaruhi proses pengamatan dan perhitungan pada hasil penelitian.
4. Hewan uji yang digunakan dalam penelitian mempengaruhi kemudahan dalam pengambilan sumsum tulang yang akan diamati.
5. Konsentrasi ekstrak yang digunakan mempengaruhi kerja optimum ekstrak rimpang lengkuas.

C. Pembatasan Masalah

Berdasarkan identifikasi masalah yang dikemukakan di atas, maka pada penelitian ini dibatasi pada beberapa hal sebagai berikut :

1. Spesies tumbuhan lengkuas yang digunakan dalam penelitian ini adalah lengkuas merah lokal (*Alpinia galanga*).
2. Bagian tumbuhan yang digunakan adalah rimpang lengkuas (Harla Rusmalin: 2003).
3. Senyawa toksik yang digunakan sebagai kontrol positif adalah siklofosfamid dengan dosis 50 mg/kg bb (Didi J.P dkk: 2000).

4. Metode yang digunakan untuk uji aktivitas antimutagenik adalah metode uji mikronukleus, mengacu pada penelitian aktivitas antimutagenik dan antioksidan dari Didi J.P dkk (2000) serta uji mutagenik Nur Habibah (2008) dan Dian Puspitasari (2009).
5. Hewan uji yang digunakan adalah mencit jantan (*mus musculus*) galur Balb-c yang berusia 6-7 minggu dengan berat badan 34 gram.
6. Variasi konsentrasi ekstrak metanol rimpang lengkuas yang digunakan adalah 300 dan 600 mg/kg bb, mengacu pada penelitian Nur Habibah (2008:7).

D. Perumusan Masalah

Berdasarkan pembatasan masalah di atas, maka perumusan masalah dalam penelitian ini adalah berapakah persentase aktivitas antimutagenik ekstrak metanol rimpang lengkuas?

E. Tujuan Penelitian

Berdasarkan perumusan masalah diatas, maka tujuan dari penelitian ini adalah mengetahui persentase aktivitas antimutagenik ekstrak metanol rimpang lengkuas (*Alpinia galanga*).

F. Manfaat Penelitian

Manfaat pada penelitian ini adalah

1. Menambah ilmu pengetahuan mengenai aktivitas antimutagenik ekstrak metanol rimpang lengkuas.

2. Memberikan pengetahuan mengenai mutasi, kanker, serta aktivitas antimutagenik dan hubungannya dengan ekstrak metanol yang terkandung dalam rimpang lengkuas.
3. Memberikan informasi mengenai manfaat rimpang lengkuas kepada masyarakat.

BAB II

KAJIAN PUSTAKA

A. Deskripsi Teori

1. Lengkuas (*Alpinia galanga*)

Lengkuas sering dipakai oleh kaum wanita dikenal sebagai penyedap masakan. Lengkuas termasuk tumbuhan tegak yang tinggi batangnya mencapai 2-2,5 meter. Lengkuas dapat hidup di daerah dataran rendah sampai dataran tinggi, lebih kurang 1200 meter diatas permukaan laut. Ada dua jenis tumbuhan lengkuas yang dikenal yaitu varitas dengan rimpang umbi (akar) berwarna putih dan varitas berimpang umbi merah. Lengkuas berimpang umbi putih inilah yang sering dipakai sebagai penyedap masakan, sedang lengkuas berimpang umbi merah digunakan sebagai obat. Lengkuas mempunyai batang pohon yang terdiri dari susunan pelepah-pelepah daun. Daun-daunnya berbentuk bulat panjang, daun yang terdapat pada bagian bawah terdiri dari pelepah-pelepah saja, sedangkan bagian atas batang terdiri dari pelepah-pelepah lengkap dengan helaian daun. Bunganya muncul pada bagian ujung tumbuhan. Rimpang umbi lengkuas selain berserat kasar juga mempunyai aroma yang khas. Lengkuas (gambar 2) memiliki klasifikasi tumbuhan sebagai berikut:

Kingdom : Plantae (Tumbuhan)

Sub Kingdom : Tracheobionta (Tumbuhan berpembuluh)

Super Divisi : Spermatophyta (Menghasilkan biji)

Divisi : Magnoliophyta (Tumbuhan berbunga)

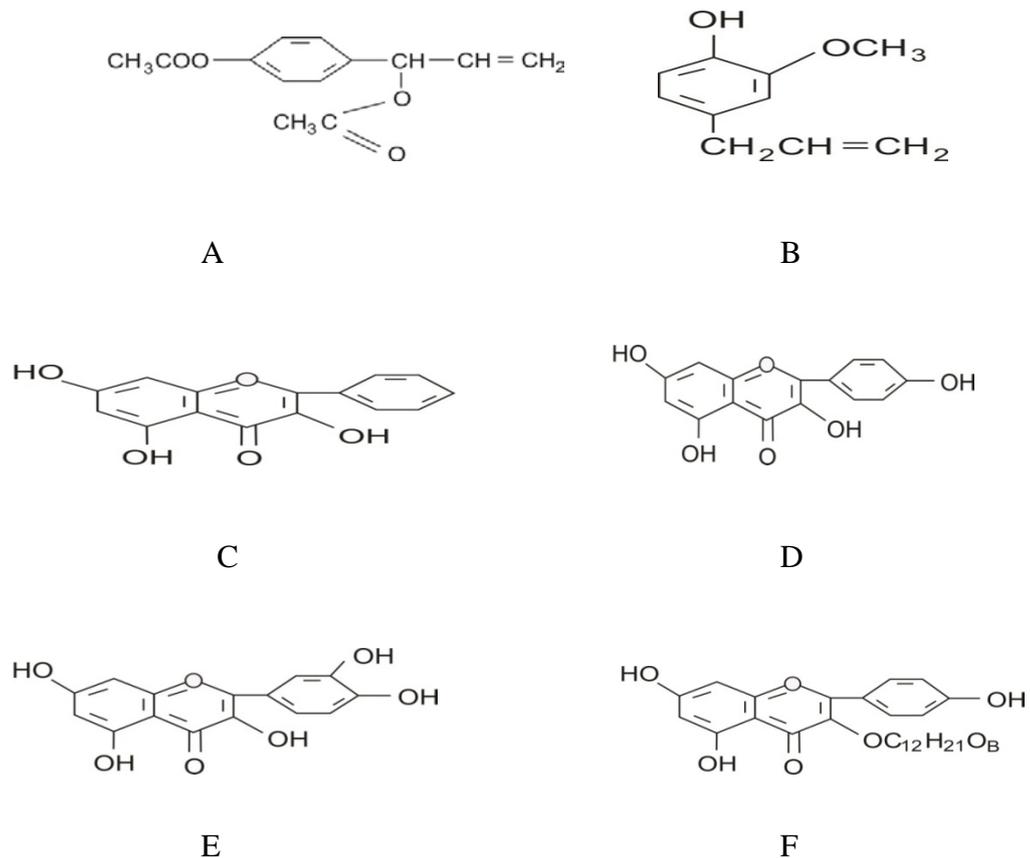
- Kelas : Liliopsida (berkeping satu / monokotil)
- Sub Kelas : Commelinidae
- Ordo : Zingiberales
- Famili : Zingiberaceae (suku jahe-jahean)
- Genus : *Alpinia*
- Spesies : *Alpinia galanga* (Nani Widjaja Budi Hartono, 2009:9).



Gambar 2. Tumbuhan Lengkuas (*Alpinia galanga*)

Lengkuas dikenal kaya kandungan kimia. Beberapa zat kimia yang sudah diketahui terkandung dalam lengkuas adalah saponin, tanin, flavonoida, minyak atsiri, kandungan aktif basonin, eugenol, galangin, kaempferitin, kaempferol dan quersetin. Basonin dikenal memiliki efek merangsang semangat, eugenol mencegah ejakulasi prematur, antijamur *Candida albicans*, antikejang analgetik, anestetik, dan penekan pengendali gerak, galangin meredakan rasa lelah, penghambat enzim siklo-oksigenase dan lipoksogenase, galangol dapat merangsang semangat dan menghangatkan tubuh, sementara quersetin berfungsi

untuk mengobati kerapuhan tulang (Sigit Udjiana, 2008: 137). Nani Widjaja Budi Hartono (2009:42-49) menyatakan bahwa ekstrak etil asetat lengkuas mengandung ACA yang dapat meningkatkan apoptosis, mencegah inflamasi, menghilangkan radikal bebas, dan menghambat aktivitas proliferasi sel kanker yang disebabkan oleh transplantasi sel kanker primer manusia. Beberapa struktur senyawa kimia yang terkandung dalam rimpang lengkuas dapat dilihat pada gambar 3.



Gambar 3. Beberapa Senyawa Kimia yang Terkandung dalam Rimpang Lengkuas: A) 1-asetoksi khavikol asetat, B) eugenol, C) galangin, D) kaempferol, E) quersetin, F) kaempferitin.

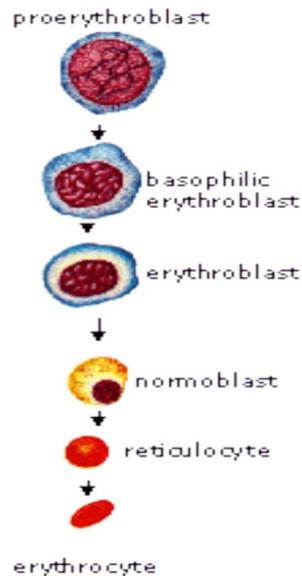
2. Eritrosit

Eritrosit berasal dari kata erytron yang berarti merah dan cyte yang berarti sel. Sel darah merah atau eritrosit memiliki diameter 6,9 μm pada tikus yang berumur lebih dari 30 hari (Reagan, W.J., Sanders, T.G. & DeNicola, D.B., 1987:288). Eritrosit berbentuk cawan bikonkaf dengan pinggiran sirkuler yang tebalnya 2,5 μm dan pusatnya yang tipis (Frandsen, 1992: 864). Bentuk bikonkaf terlihat jelas dalam preparasi apus karena perbedaan transmisi cahaya dari sisi keliling hingga ke pusat eritrosit.

Eritrosit dapat mengembang/bertambah besar dalam media hipotonik dan mengecil dalam media hipertonik. Berwarna pink pada bagian yang diwarnai melalui prosedur biasa. Di dalam rongga kapiler dan pembuluh yang lebih besar, eritrosit dapat saling bertumpuk dalam formasi silinder. Formasi ini menandakan bagaimana cara sel tersebut bergerak melalui kapiler. Keberadaan eritrosit di luar pembuluh biasanya merupakan peninggalan preparasi pada jaringan normal (Banks, 1993:143&145).

Eritrosit terdiri dari 60-70% air, 28-35% hemoglobin dan bahan organik maupun nonorganik (Coles, 1986:78). Eritrosit tersusun dari lapisan lipida yang terdiri dari fosfolipida yang bersifat hidrofilik dan asam lemak yang bersifat hidrofobik, protein, dan karbohidrat (Jain, 1986:273).

Eritrosit secara fisiologi berfungsi untuk pertukaran gas serta transportasi O_2 dan CO_2 . Eritron terdiri atas eritrosit yang bersirkulasi dan erythropoietic tissue (sumsum tulang). Eritrosit dibentuk di dalam sumsum tulang melalui beberapa fase (Gambar 4) (Guyton & Hall, 1997:99).



Gambar 4. Fase Pembentukan Eritrosit

Frandsen (1992:864) menyatakan bahwa sel eritrosit dibentuk dalam sumsum tulang dengan mekanisme sebagai berikut: hemoglobin (senyawa organik yang menyebabkan warna merah pada darah) mengikat oksigen udara yang terdapat di dalam paru-paru sehingga terbentuk oksihemoglobin yang selanjutnya oksigen dilepaskan ke sel-sel jaringan di dalam tubuh. Besi diserap dari makanan melalui sel-sel mukosa duodenal, yang kemudian zat besi masuk ke dalam mukosa kapiler darah. Sebagian dari zat besi menuju ke sumsum tulang untuk membentuk eritrosit

Jumlah eritrosit bervariasi menurut umur, jenis kelamin, pengaruh hormon, hipoksia, dan lingkungan. Biasanya eritrosit meningkat sesuai dengan pertumbuhan, umur, dan jenis kelamin. Pada tikus jantan jumlahnya lebih tinggi daripada yang betina, jumlah total eritrosit juga dipengaruhi oleh musim, cuaca, dan suhu lingkungan (Jain, 1986:276).

3. Mutasi

Mutasi gen adalah perubahan pada urutan basa DNA. Perubahan pada basa menyebabkan perubahan produk yang dikode oleh gen tersebut. Beberapa laporan menyebutkan bahwa suatu antioksidan, yaitu senyawa yang dapat menetralkan radikal bebas juga mempunyai aktivitas antimutagenik (Ghaskadhi S. et al1992:11).

Berdasarkan bagian yang mengalaminya, mutasi dapat dibagi menjadi dua, yaitu:

a. Mutasi titik (*point mutation*)

Jenis mutasi ini terjadi karena perubahan satu pasangan basa pada untai DNA. Satu basa pada satu titik untai DNA diganti dengan basa lain, sehingga terjadi kesalahan (*inversion*) pasangan basa. Jenis mutasi ini dibagi menjadi :

1) Mutasi missense (*missense mutation*)

Mutasi *missense* yaitu mutasi titik yang disebabkan oleh terjadinya substitusi basa yang menyebabkan perubahan asam amino pada proses sintesis protein. Substitusi basa yang terjadi di dalam gen yang mengkode protein tertentu, menyebabkan mRNA yang ditranskripsi dari gen akan membawa basa yang tidak sesuai pada posisi tersebut. Ketika mRNA di translasi menjadi protein, basa yang tidak sesuai itu dapat menyebabkan penyisipan asam amino yang tidak sesuai pula dalam protein.

Jika DNA mutan mengalami replikasi, maka untai DNA baru yang terbentuk juga mengalami pergantian pasangan basa, sehingga akan menyebabkan perubahan sampai pada jenis protein yang disintesis. Bila pada proses replikasi

DNA terjadi kesalahan pemasangan basa seperti T-G maka pada proses replikasi selanjutnya Adenin berpasangan dengan Timin (A-T) sebagai ganti pasangan G-C asalnya. Molekul mRNA yang merupakan hasil transkripsi dari DNA ini akan membentuk kodon UAU, sehingga pada saat proses translasi akan mengkode asam amino yang berbeda yaitu tirosin menggantikan sistein.

2) Mutasi nonsense (*nonsense mutation*).

Mutasi nonsense terjadi karena substitusi basa yang menyebabkan terbentuknya stop kodon (nonsense) di tengah molekul mRNA, sehingga protein yang disintesis tidak fungsional.

3) Mutasi frameshift (*frameshift mutation*)

Pada mutasi frameshift terjadi pengurangan (*deletion*) atau penambahan (*addition*) satu atau lebih pasangan nukleotida di dalam DNA. Mutasi frameshift hampir selalu menyebabkan perubahan asam amino rentangan panjang sehingga menghasilkan produk protein yang inaktif. Pada kebanyakan kasus, mutasi ini menyebabkan terbentuknya stop kodon yang menyebabkan berakhirnya proses translasi (Tortora, Funke and Case 2001: 227&228).

b. Mutasi kromosom

Mutasi kromosom sering disebut juga sebagai mutasi besar (*gross mutation*). Jenis mutasi ini disebabkan karena perubahan jumlah, susunan, atau urutan gen dalam kromosom. Mutasi kromosom sering terjadi karena kesalahan dalam proses meiosis dan mitosis.

Berdasarkan sel yang mengalaminya, mutasi dibagi menjadi dua yaitu :

1) Mutasi somatik

Mutasi somatik yaitu mutasi yang sering terjadi pada sel somatik. Oleh karena itu mutasi ini tidak bersifat menurun, misalnya mutasi yang terjadi pada sel kanker.

2) Mutasi gametik

Mutasi gametik yaitu mutasi yang terjadi pada sel gamet dan bersifat menurun, misalnya mutasi yang bersifat menguntungkan yang sengaja dilakukan oleh manusia pada tumbuhan poliploid.

Peristiwa mutasi ada yang bersifat spontan, yaitu mutasi yang terjadi karena kesalahan pada proses replikasi DNA tanpa ada pengaruh dari luar seperti mutasi titik dan mutasi kromosom. Ada pula mutasi yang bersifat tak spontan, yang terjadi karena induksi faktor dari luar seperti mutasi somatik.

Bahan atau agen di alam, seperti bahan-bahan kimia dan fisika yang secara langsung maupun tidak langsung menyebabkan terjadinya mutasi disebut mutagen. Adanya bahan mutagen dapat meningkatkan kecepatan mutasi hingga 10-1000 kali. Contoh bahan mutagen kimia antara lain adalah siklofosamid, asam nitrat, senyawa analog basa seperti 2-aminopurin dan 5-bromourasil, benzopiren yang terdapat pada asap, dan aflatoksin yang diproduksi oleh jamur. Mutagen fisis pada umumnya berbentuk radiasi sinar, seperti sinar X, gamma, dan ultraviolet (Tortora, Funke and Case 2001: 227&228).

4. Aktivitas Antimutagenik

Aktivitas antimutagenik adalah aktivitas suatu zat yang dapat mengurangi efek mutagenik dari zat lain. Pada penelitian ini aktivitas antimutagenik dilakukan

dengan uji mikronukleus. Uji mikronukleus merupakan salah satu metode uji aktivitas antimutagenik sitogenetik *in vivo*. Metode pada uji mikronukleus dilakukan dengan perlakuan secara akut dan subakut dengan berbagai peringkat dosis tertentu. Hewan uji yang telah diberi perlakuan kemudian dibedah dan sel sumsum tulangnya diperiksa pada bagian metafasa. Jaringan yang biasa diteliti pada metode sitogenetika *in vivo* ialah sumsum tulang untuk efek terhadap mitosis, limfosit untuk kerusakan yang terjadi sebelum sintesis DNA, fibroblast kulit untuk efek jangka panjang, gametosit untuk efek terhadap meiosis, dan kultur sel cair amniotik untuk kerusakan pada perkembangan keturunan.

Penelitian aktivitas antimutagenik menggunakan metode uji mikronukleus memiliki beberapa keuntungan, antara lain (Yanti Lusiyanti & Abdul Wa'id, 1999: 22).

- a. Mikronukleus dapat diamati pada seluruh siklus sel dan terbentuk pada saat pembelahan sel serta tetap ada selama masa interfase.
- b. Mikronukleus mudah diamati, bahkan oleh orang yang belum ahli dalam bidang sitogenetika.
- c. Mikronukleus tidak memerlukan kariotip yang baik.
- d. Kemungkinan terjadinya artefak kecil dan hampir sama untuk berbagai spesies.

B. Penelitian yang Relevan

Penelitian Dian Puspitasari (2009) tentang efek antimutagenik kulit batang meranti (*Hopea mengarawan*) terhadap gambaran rutin eritrosit mencit. Penelitian dilakukan dengan menggunakan mencit jantan jenis Balb/s sebanyak 26 ekor,

yang dibagi dalam 3 kelompok, dengan kontrol mutagenik yaitu siklofosamid dosis 50 mg/kg bb. Menunjukkan bahwa pemeriksaan gambaran rutin eritrosit dari pemberian antimutagenik dari kulit batang meranti dosis 300 mg/kg bb dan 600 mg/kg bb pada mencit, belum dapat mencegah kerusakan sumsum tulang.

Penelitian Nani Widjaja Budi Hartono (2009) tentang pengaruh ekstrak etil asetat lengkuas (*Alpinia galanga*) terhadap aktivitas proliferasi sel dan indeks apoptosis pada adenokarsinoma mamma mencit dengan menggunakan metode uji mikronukleus menunjukkan bahwa, lengkuas mengandung 1-asetoksi khavikol asetat (ACA) yang dapat menurunkan aktivitas proliferasi sel kanker.

Penelitian Nur Habibah (2008) tentang uji mutagenik ekstrak etanol kulit batang *Hopea mengarawan* (Dipterocarpaceae) terhadap sumsum tulang mencit secara *in vivo*, dengan menggunakan metode uji mikronukleus menunjukkan bahwa ekstrak etanol kulit batang hopea mengarawan (Dipterocarpaceae) dengan dosis 300 dan 600 mg/kg tidak bersifat mutagenik, dan memiliki sifat antimutagenik yang sebanding dengan pemberian dosis ekstrak.

Penelitian Herla Rusmalin (2003) tentang aktivitas antikanker ekstrak etil asetat rim pang lengkuas lokal (*Alpinia galanga* (L) Sw) pada alur sel kanker manusia serta mencit yang ditransplantasi dengan sel tumor primer, menunjukkan bahwa ekstrak lengkuas dapat menghambat proliferasi sel kanker dalam kultur baik menggunakan alur sel kanker. Penghambatan tersebut dipengaruhi oleh jenis dan konsentrasi ekstrak lengkuas.

Penelitian Didi J. P dkk (2000) tentang aktivitas antimutagenik dan antioksidan daun puspa (*Schima Walichi kort*). Hasil pengujian aktivitas

antimutagenik secara *in vivo* dengan metode uji mikronukleus menunjukkan bahwa pemberian fraksi butanol daun puspa secara oral mampu menurunkan frekuensi seleritrosit polikromatik bermikronukleus (MNPCE) dari apusan sumsum tulang paha mencit jantan galur Swiss-Webster yang diinduksi dengan siklofosfamid dosis 50 mg/kg secara intraperitoneal. Fraksi butanol dosis 300 mg/kg mampu menurunkan frekuensi MNPCE sebesar 10,51% sedangkan pada dosis 600 mg/kg memberikan penurunan sebesar 38,27%.

C. Kerangka Berfikir

Mutasi genetik merupakan perubahan pada urutan basa DNA yang menyebabkan perubahan produk yang dikode oleh gen tersebut. Mutasi mengakibatkan timbulnya berbagai penyakit terutama kanker. Berbagai faktor penyebab mutasi gen antara lain induksi senyawa yang bersifat karsinogenik, radikal bebas, radiasi sinar, infeksi virus, pemberian hormon tertentu secara berlebihan, rangsangan fisik berulang yang menyebabkan luka tidak kunjung sembuh, serta perilaku gaya hidup masyarakat sendiri. Oleh karena itu, upaya penemuan senyawa yang bersifat antimutagenik dari bahan alam yang dapat menurunkan terjadinya mutasi genetik yang efektif dan selektif menjadi hal yang penting. Hal ini disebabkan karena zat antimutagenik yang berasal dari senyawa kimia sintetik bekerja tidak selektif dan memiliki mekanisme kerja merusak DNA baik pada sel kanker maupun pada sel normal di sekitarnya.

Lengkuas merupakan bahan alam yang diduga dapat menghambat mutasi gen yang disebabkan oleh induksi siklofosamid, yaitu dengan menurunkan MNPCE pada preparat apus sumsum tulang mencit secara *in vivo*.

Berdasarkan hal tersebut, maka dilakukan penelitian aktivitas antimutagenik dari ekstrak metanol rimpang lengkuas, sehingga diharapkan senyawa dalam ekstrak tersebut dapat bermanfaat sebagai salah satu zat antimutagenik.

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Subjek dan Objek Penelitian

1. Subjek Penelitian

Subjek dalam penelitian adalah rimpang lengkuas yang diambil dari pasar Beringharjo, Yogyakarta.

2. Objek Penelitian

Objek dalam penelitian ini adalah aktifitas antimutagenik ekstrak metanol rimpang lengkuas yang ditunjukkan dengan penurunan jumlah MNPCE dari preparat apus sumsum tulang mencit yang telah diberi siklofosamid dan ekstrak metanol lengkuas dengan berbagai variasi konsentrasi.

B. Variabel Penelitian

1. Variabel Bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah konsentrasi ekstrak metanol rimpang lengkuas yang diberikan kepada hewan uji mencit jantan galur Balb-c, yaitu 300 dan 600 mg/kg bb.

2. Variabel Terikat

Variabel terikat dalam penelitian ini adalah aktivitas antimutagenik ekstrak metanol rimpang lengkuas.

C. Alat dan Bahan

1. Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah satu set alat pembacaan preparat yang terdiri dari mikroskop cahaya merk olimpus, kamera, dan counter, sentrifuge hettich, seperangkat alat bedah yang terdiri dari gunting, pinset, dan pisau bedah, spruit oral dan jarum tuberkulin, ependorf, gelas objek, deckglaser, neraca analitik, gelas beker, erlenmeyer, gelas ukur 10 dan 100 ml, pipet volume 1ml, pipet tetes, pengaduk, spatula, almari es.

2. Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah :

a) Bahan uji

Ekstrak metanol rimpang engkuas

b) Hewan uji

Hewan uji yang digunakan adalah mencit jantan yang berusia 6-7 minggu dengan berat badan 33,64-34 gram. Mencit ini diperoleh dari Laboratorium Penelitian dan Pengujian Terpadu Universitas Gadjah Mada (LPPT UGM). Mencit kemudian ditempatkan dalam kandang yang berbeda untuk setiap perlakuan. Selama perlakuan, mencit diberi makan dengan pelet - 789 dan minuman dari air ledeng yang masing-masing diberikan secara ad-libitum.

c) Bahan kimia

Metanol teknis digunakan sebagai pelarut serbuk lengkuas, *Natriumcarboxy methyl cellulose* (Na-CMC) sebagai pensuspensi bahan uji, larutan siklofosamid sebagai control positif, xylool digunakan untuk fikasi

preparat apus sumsum tulang, akuades untuk mencuci preparat, pewarna giemsa untuk member warna pada preparat, NaCl fisiologis sebagai cairan untuk mengambil sumsum tulang

D. Metode Pengumpulan Data

Data yang diperlukan dalam penelitian ini adalah jumlah MNPCE dari preparat apus sumsum tulang paha mencit jantan. Jumlah MNPCE kelompok kontrol dibandingkan dengan kelompok perlakuan sehingga sifat mutagenik dan aktivitas antimutagenik ekstrak metanol rimpang lengkuas dapat diketahui.

Pada penelitian ini digunakan mencit jantan galur Balb-c sebanyak 25 ekor. Hewan uji kemudian dibagi menjadi 5 kelompok perlakuan yang masing-masing kelompok terdiri dari 5 ekor mencit. Pembagian perlakuan masing-masing kelompok hewan uji dapat dilihat pada tabel 1.

Tabel 1. Pembagian Kelompok dan Perlakuan terhadap Hewan Uji

Kelompok	Perlakuan	Dosis pemberian (mg/kg bb)	Keterangan
I	Siklofosamid	50	Kontrol positif
II	Na-CMC 1%	50	Kontrol negatif
III	Ekstrak metanol lengkuas	600	Perlakuan 2
IV	Ekstrak metanol & Siklofosamid	300* & 50**	Perlakuan 3
V	Ekstrak metanol & Siklofosamid	600* & 50**	Perlakuan 4

Keterangan:

* : Dosis untuk ekstrak metanol lengkuas

** : Dosis untuk siklofosamid.

E. Prosedur Penelitian

1. Pembuatan Bahan Uji

a. Pembuatan ekstrak metanol

1) Penyediaan bahan

Rimpang lengkuas dikupas dan dikeringkan, lalu digiling sehingga diperoleh serbuk halus. Serbuk halus sebanyak 5 kg kemudian dimaserasi.

2) Pembuatan ekstrak metanol

Serbuk halus rimpang lengkuas sebanyak 5 kg dimasukkan ke dalam jirigen ukuran 25L kemudian diberi metanol sebanyak 10L. Metanol yang digunakan adalah metanol teknis, maserasi dilakukan selama 24 jam pada suhu kamar dan dilakukan pengulangan sebanyak 2 kali. Penyaringan dengan kain saring yang dilakukan setiap 1 kali 24 jam. Kemudian serbuk basah (residu) dimaserasi lagi dengan menggunakan metanol. Hasil penyaringan kemudian diuapkan menggunakan evaporator buchi dengan tujuan agar pelarut metanol menguap hingga diperoleh ekstrak yang pekat.

b. Pembuatan larutan Na-CMC 1% (b/v)

Larutan Na-CMC 1% (b/v) ini digunakan sebagai pensuspensi bahan uji yang akan dianalisis sifat aktivitas antimutageniknya terhadap sumsum tulang mencit. Larutan Na-CMC 1% dibuat dengan melarutkan 1g Na-CMC kedalam akuades hingga mencapai volume 100 mL , kemudian diaduk hingga homogen.

c. Pembuatan Siklofosfamid Dosis 50mg/kg bb dalam air steril

Pembuatan larutan Siklofosfamid Dosis 50mg/kg bb dalam air steril disesuaikan dengan berat badan mencit yang akan diinduksi. Jika mencit mempunyai berat 34gr, maka siklofosfamid yang dibutuhkan adalah:

$$\frac{34 \text{ gr}}{1000 \text{ gr}} \times 50 \text{ mg} = 1,7 \text{ mg}$$

Apabila stok larutan siklofosfamid dalam air steril yang tersedia adalah 1% maka yang jumlah larutan yang diinduksikan secara intraperitoneal ke hewan uji adalah:

$$\frac{1,7 \text{ mg}}{1000 \text{ mg}} \times 100 \text{ ml} = 0,17 \text{ ml}$$

d. Pembuatan Sediaan Bahan Uji

Jumlah bahan uji yang diberikan ke tubuh mencit disesuaikan dengan dosis dan berat badan mencit. Dalam penelitian ini digunakan 2 variasi dosis, yaitu 300 dan 600 mg/kg bb.

1) Ekstrak metanol lengkuas dengan dosis 300mg/kg bb. Jika mencit mempunyai berat 34gr, maka ekstrak yang dibutuhkan adalah:

$$\frac{34 \text{ gr}}{1000 \text{ gr}} \times 300 \text{ mg} = 10,2 \text{ mg}$$

Apabila stok larutan Ekstrak metanol lengkuas dalam Na- CMC yang tersedia adalah 1% maka ekstrak yang diberikan secara peroral pada mencit adalah :

$$\frac{10,2 \text{ mg}}{1000 \text{ mg}} \times 100 \text{ ml} = 1,02 \text{ ml}$$

2) Ekstrak metanol lengkuas dengan dosis 600 mg/kg bb. Jika mencit mempunyai berat 34gr, maka ekstrak yang dibutuhkan adalah:

$$\frac{34 \text{ gr}}{1000 \text{ gr}} \times 600 \text{ mg} = 20,4 \text{ mg}$$

Apabila stok larutan Ekstrak metanol lengkuas dalam Na- CMC yang tersedia adalah 1% maka ekstrak yang diberikan secara peroral pada mencit adalah :

$$\frac{20,4 \text{ mg}}{1000 \text{ mg}} \times 100 \text{ ml} = 2,04 \text{ ml}$$

2. Perlakuan Pada Hewan Uji

Hewan uji yang digunakan dalam penelitian ini adalah mencit jantan yang berusia 6-7 minggu dengan berat badan berkisar antara 33,64-37,34g. Mencit sebanyak 25 ekor dan dibagi menjadi 5 kelompok perlakuan masing-masing terdiri dari 5 ekor mencit.

Setiap kelompok mencit ditempatkan dalam kandang plastik yang berbeda dengan alas sekam, dengan suhu ruangan 23-25 °c, kelembaban 70-85% dan cahaya diatur dengan regulator 12 jam terang 12 jam gelap. Sebelum perlakuan, mencit dipuasakan selama 18 jam, akan tetapi selama perlakuan semua mencit diberi makan berupa pelet-789 dan minuman dari air ledeng yang masing-masing diberikan secara *ad-libitum*.

Ekstrak metanol lengkuas yang telah disupensi dengan Na-CMC diberikan secara *peroral* dengan menggunakan spruit oral yang langsung dimasukkan ke dalam lambung mencit, sedangkan larutan siklofosamid diinjeksikan secara *intraperitoneal*. Perlakuan dilakukan selama 2 hari.

Kemudian pada hari ke 2 tepatnya setelah 6 jam pemberian siklofosamid semua mencit dimatikan dengan cara dislokasi leher dan dibedah untuk diambil sumsum tulangnya. Perlakuan terhadap hewan uji dapat dilihat pada tabel 2. Secara skematis perlakuan terhadap hewan uji dapat dilihat pada gambar 5.

Tabel 2. Perlakuan terhadap Hewan Uji

Kel	Perlakuan*				
	Jam ke-0	30 menit kemudian	24 jam kemudian	30 jam kemudian	6 jam kemudian
I	Lar. Na-CMC 1%	-	Lar. Na-CMC 1%	-	Dislokasi leher dan pembedahan untuk diambil keempat tulang pahanya
II	Lar. S1	-	Lar. S1	-	
III	Ekstrak L	-	Ekstrak L	-	
IV	Ekstrak L1	Lar. S1	Ekstrak L1	Lar.S1	
V	Ekstrak L2	Lar. S1	Ekstrak L2	Lar. S1	

Keterangan :

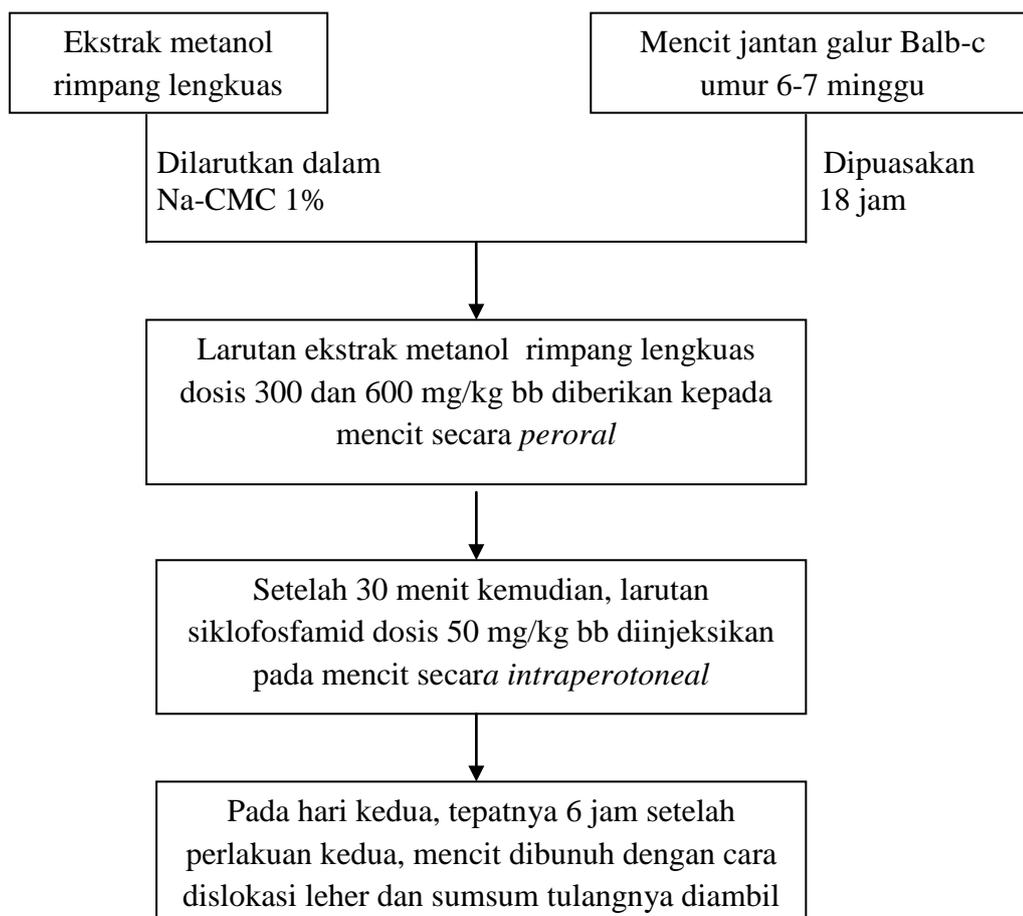
* : Semua perlakuan setelah mencit dipuasakan terlebih dahulu selama 18 jam

Larutan S1 : Larutan siklofosamid dosis 50 mg/kg bb dalam air steril

Ekstrak L : Larutan metanol rimpang lengkuas 600 mg/kg bb

Ekstrak L1 : Ekstrak metanol rimpang lengkuas dosis 300 mg/kg bb dalam Na-CMC 1%.

Ekstrak L2 : Ekstrak metanol rimpang lengkuas dosis 600 mg/kg bb dalam Na-CMC 1%



Gambar 5. Skema Perlakuan terhadap Hewan Uji.

3. Pembuatan Preparat Apus Sumsum Tulang Mencit

Sumsum tulang paha mencit diambil dengan menggunakan spet yang berisi 1 ml NaCl fisiologis kemudian disentrifugasi pada kecepatan 100 rpm selama 10 menit. Supernatan yang dihasilkan dibuang dengan menggunakan pipet tetes, sedangkan endapannya digunakan sebagai sediaan sel.

Sediaan sel kemudian dibuat preparat apus pada gelas objek, dengan cara meneteskan sediaan sel pada gelas objek kemudian diratakan dengan *deckglasser* pada derajat kemiringan 45°. Selanjutnya preparat dikeringkan pada suhu kamar dan difiksasi dengan metanol absolut selama 10 menit. Preparat apus yang telah kering ini, kemudian dicelupkan dalam larutan pewarna Giemsa 20% selama 30 menit. Setelah terwarna, preparat apus dicuci dengan air mengalir dan dikeringkan kembali pada suhu kamar. Preparat apus kemudian diamati jumlah MNPCE dibawah mikroskop dengan pembesaran 1000 kali untuk setiap 1000 sel eritrosit polikromatik (PCE).

Apabila hasil yang diperoleh dari pengamatan mikroskopik preparat apus kurang jelas, maka preparat difiksasi kembali menggunakan metanol 30, 50, 70 dan 80% serta metanol absolut secara bertingkat masing-masing selama 10 menit. pada akhir setiap proses fiksasi menggunakan metanol, preparat dicuci dengan air mengalir. Sebagai langkah terakhir preparat difiksasikan dengan menggunakan xylol selama 10 menit. Kemudian preparat dicuci dengan air mengalir dan dikeringkan kembali pada suhu kamar. Preparat kemudian diamati kembali jumlah MNPCE di dibawah mikroskop dengan pembesaran 1000 kali untuk setiap 1000 (PCE). Pembuatan preparat apus secara skematis dapat dilihat pada lampiran II.

F. Teknik Analisis Data

Teknik analisis data dilakukan dengan deskripsi kualitatif hasil pengamatan secara mikroskopik dan perbandingan kuatitatif hasil pengamatan

jumlah MNPCE kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan. Persentase MNPCE dihitung dengan menggunakan rumus sebagaimana tercantum pada lampiran V.

BAB IV

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

A. HASIL PENELITIAN

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui persentase aktivitas antimutagenik ekstrak metanol rimpang lengkuas terhadap sel eritrosit dalam sumsum tulang mencit secara *in vivo*. Aktivitas antimutagenik ini ditunjukkan dengan penurunan jumlah MNPCE pada preparat apus sumsum tulang mencit yang telah diberi ekstrak metanol lengkuas dan diinduksi dengan siklofosamid (tabel 3), kemudian persentase aktivitas antimutagenik dihitung menggunakan rumus yang terdapat pada lampiran V.

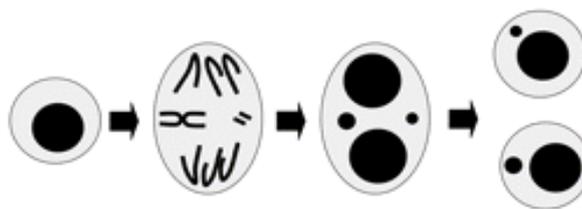
Tabel 3. Rerata Jumlah MNPCE pada Preparat Apus Sumsum Tulang Mencit.

Kel	Perlakuan	Rerata jumlah MNPCE ± Deviasi Standar	Penurunan jumlah MNPCE (%)
I	Na-CMC 1%	0	-
II	Lar. S1	7,333±1,247	-
III	Ekstrak L	0	-
IV	Ekstrak L1	1,667±1,247	64,273
V	EkstrakL2	2,667±1,247	52,930

B. PEMBAHASAN

Mutasi adalah perubahan pada materi genetik suatu makhluk hidup yang terjadi secara tiba-tiba, acak dan merupakan dasar bagi sumber variasi organisme hidup yang bersifat terwariskan (Chaidar Warianto, 2011:1). Salah satu indikator terjadinya mutasi adalah adanya mikronukleus.

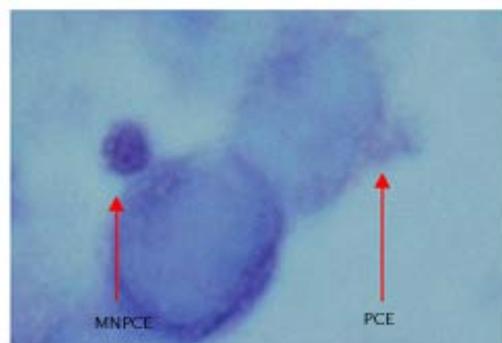
Mikronukleus merupakan anak inti sel yang berbentuk bulat kecil dan berada disekitar sitoplasma sel eritrosit serta mempunyai ukuran kurang lebih $1/20 - 1/5$ bagian dari intisel induknya. Mikronukleus berasal dari fragmen asentrik atau kromosom yang tertinggal pada saat sel melakukan mitosis sebagai hasil kerusakan atau cacat pada perlengkapan benang kromosom, sehingga mikronukleus terbentuk pada stadium anafase (gambar 6) (Didi J.P dkk, 2000:18).



Gambar 6. Pembentukan Mikronukleus dari Kromosom yang Tertinggal pada Stadium Anafase.

Metode penentuan mikronukleus (MN) dapat dilakukan pada berbagai variasi sel yang terdapat pada sumsum tulang hewan rodensia. Oleh karena itu untuk mengurangi variabel pengganggu yang dapat mempengaruhi pengamatan, maka penelitian ini hanya dilakukan pada salah satu tipe sel yaitu PCE (gambar 7) dari apusan sumsum tulang mencit. Terbentuknya MNPCE pada prepat apus

sumsum tulang menciit ditandai dengan ketidaknormalan gen yang mengatur pertumbuhan dan diferensiasi sel-sel yang mengakibatkan timbulnya mutasi genetik yang sangat potensial menghasilkan sel kanker (Bosmann F. t. Velde., Vande C. J. H., &Wagener. D. J. T. H. : 1990:16). Sumsum tulang yang digunakan adalah tulang paha (*femur*). Hal tersebut karena bentuk tulang paha yang lurus dan relatif besar, sehingga memudahkan peneliti dalam mengambil sumsum tulangnya.

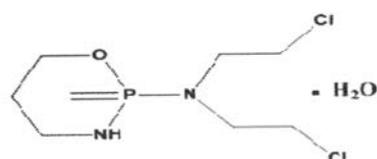


Gambar 7. Sel PCE

Pada penelitian ini, pembentukan mikronukleus diinduksi oleh siklofosfamid monohidrat. Siklofosfamid adalah antikanker yang termasuk dalam senyawa pengalkil. Penggunaan siklofosfamid sebagai agen mutagenik mempunyai efek merusak sumsum tulang, sehingga dapat mengganggu produksi dari beberapa atau semua bentuk elemen darah yang dapat menyebabkan anemia, leukopenia dan trombositopenia (Aronson & Smith 1992:365).

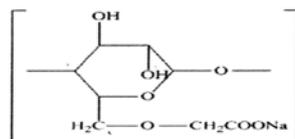
Menurut Czyzewska dan Mazur (1995:109) siklofosfamid (gambar 8) menginduksi pembentukan mikronukleus melalui metabolit aktifnya yang bersifat pengalkalis, yaitu mustard fosfamida, akrolein, dan 4-hidroksisiklofosfamid. Senyawa pengalkalis tersebut dapat berikatan dengan

berbagai gugus fungsi komponen sel, termasuk basa-basa DNA. Ikatan tersebut antara lain mengakibatkan peristiwa pindah silang DNA maupun patahan rantai DNA yang diduga menyebabkan terjadinya patahan kromosom dan dapat terlihat sebagai mikronukleus. Metabolisme siklofosamid dilaporkan menyebabkan peningkatan radikal anion superoksida dan hidroksil yang mungkin ikut berperan dalam menginduksi pembentukan mikronukleus (Ramu K, 1996:487).



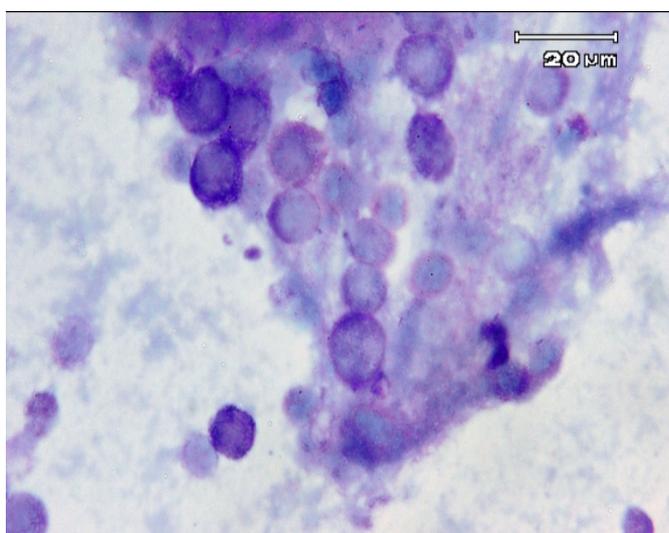
Gambar 8. Struktur Kimia Siklofosamid

Berdasarkan rerata jumlah MNPCE dari apusan sumsum tulang mencit (tabel 4) terlihat bahwa pada kelompok I yaitu kelompok hewan uji dengan pemberian larutan natrium *carboxy methyl cellulose* (Na-CMC) dosis 50 mg/kg bb, tidak mengandung MNPCE. Hal tersebut menunjukkan bahwa pemberian larutan Na-CMC tidak menyebabkan mutasi genetik, sehingga larutan tersebut dapat dikatakan tidak bersifat mutagenik. Pada penelitian ini, larutan Na-CMC digunakan sebagai pensuspensi. Dengan adanya Na-CMC ini maka partikel-partikel yang tersuspensi akan terperangkap dalam sistem tersebut dan tidak mengendap oleh pengaruh gaya gravitasi. Natrium karboksi selulose atau Na-CMC (gambar 9) berbentuk serbuk berwarna krem dan merupakan senyawa higroskopis sehingga mudah larut dan terdispersi dalam air membentuk larutan koloidal (Tranggono S dkk, 1991:18)



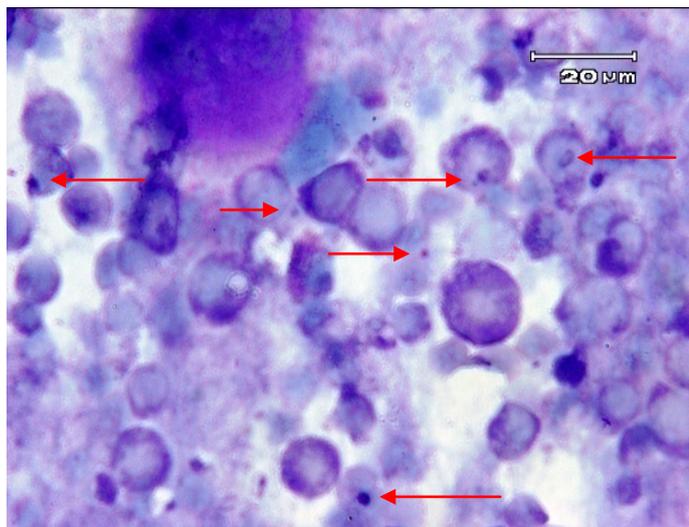
Gambar 9. Rumus struktur Na-CMC

Hasil mikroskopis sel eritrosit pada kelompok I (gambar 10) memperlihatkan bahwa sel eritrosit normal tanpa adanya mikronukleus.



Gambar 10. Gambar Mikroskopis Eritrosit Normal Kelompok I dengan Pembesaran 100X

Pada kelompok II yaitu kelompok hewan uji dengan pemberian siklofosfamid dosis 50 mg/kg bb, menunjukkan rata-rata jumlah MNPCE sebesar 7,333 yang dihitung per 100 sel. Jumlah ini paling besar jika dibandingkan dengan kelompok perlakuan yang lain. Hal tersebut berarti bahwa pemberian siklofosfamid menyebabkan terbentuknya MNPCE, atau dapat disimpulkan bahwa larutan tersebut bersifat mutagenik. Banyaknya MNPCE yang terbentuk dapat dilihat dari hasil mikroskopis preparat apus sumsum tulang pada kelompok II (gambar 11).

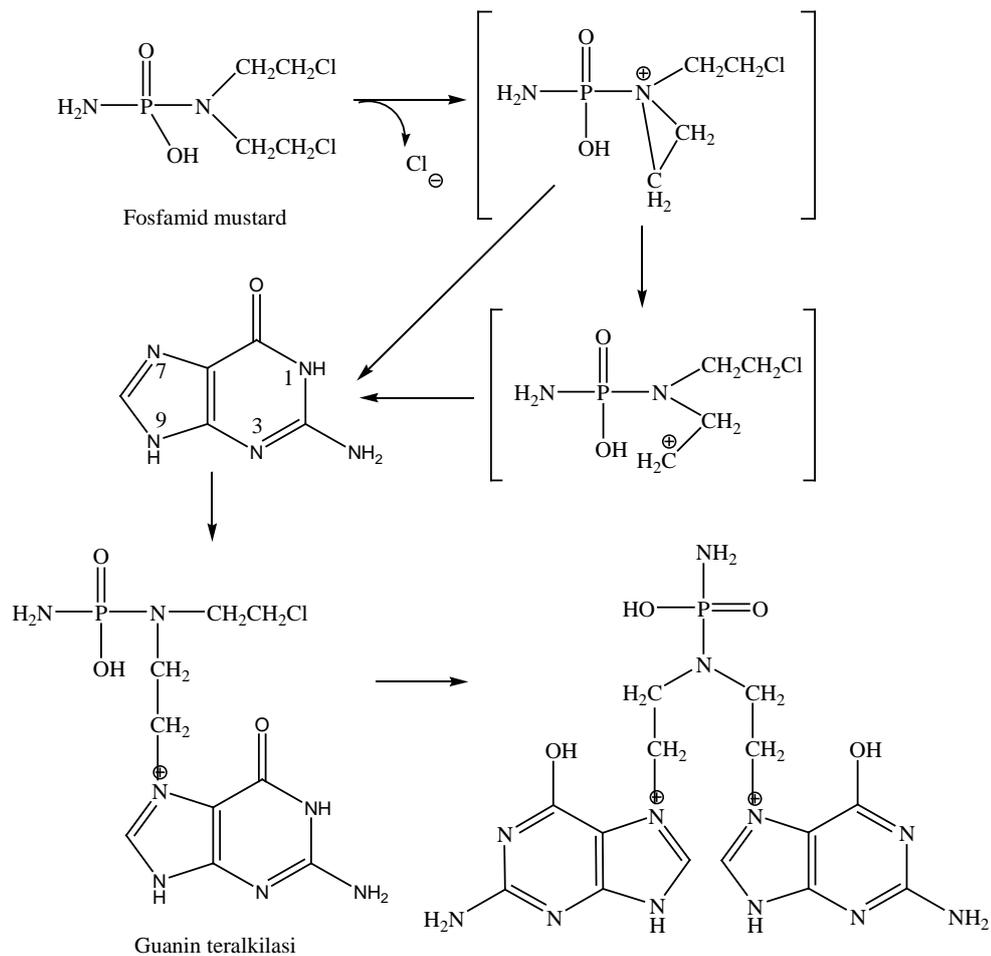


Gambar 11. Gambar Mikroskopis MNPCE Kelompok II / Kontrol Positif dengan Perbesaran 100 X

Siklofosfamid yang diinjeksikan pada tubuh mencit akan diubah oleh enzim oksidase yang ada di dalam hati menjadi metabolit aktifnya yaitu 4-hidroksi siklofosfamid yang seimbang dengan aldofosfamid, mustard fosfamida dan akrolein. Metabolit tersebut merupakan pengalkilasi yang dapat memberikan efek sitotoksik melalui transfer kelompok *alkyl*-nya ke berbagai konstituen seluler, termasuk dengan basa DNA. Peracunan utama dari alkilator ini adalah pada sumsum tulang (Czyzewska A., & Mazur, L, 1995:109).

Mekanisme penting alkilasi (mustard fosfamida) di dalam DNA (gambar 12) adalah pada posisi N7 guanin, akan tetapi, banyak basa lain yang juga dialkilasi, termasuk N1 dan N3 adenin, N3 sitosin, dan O6 guanin, serta atom-atom fosfat dan protein yang terkait dengan DNA. Interaksi ini terjadi pada rantai tunggal atau pada kedua rantai DNA melalui rangkai silang (*cross-linking*). Alkilasi *guanine* menyebabkan *miscoding* (pengkodean yang keliru) melalui pemasangan basa yang abnormal dengan thyme atau menyebabkan

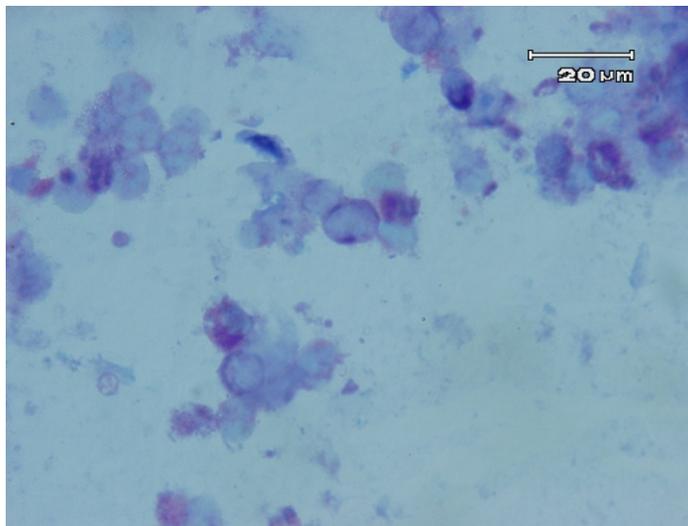
depurinisasi melalui eksitasi residu *guanine*. Efek yang terakhir ini menyebabkan pecahnya rantai DNA melalui pemisahan kerangka DNA gula-fosfa. Akibatnya dari reaksi-reaksi tersebut antara lain dapat mengakibatkan terjadinya patahan rantai DNA yang menyebabkan terjadinya patahan kromosom dan terlihat sebagai mikronukleus (Didi J.P dkk, 2000:20).



Gambar 12. Mekanisme Fosfamid Mustard Mengalkilasi Sel

Hasil pengamatan pada kelompok III yaitu pemberian ekstrak metanol rimpang lengkuas dengan dosis 600 mg/kg bb, tidak menyebabkan mutasi genetik. Hal tersebut ditunjukkan dengan tidak terbentuknya MNPCE. Hasil pengamatan

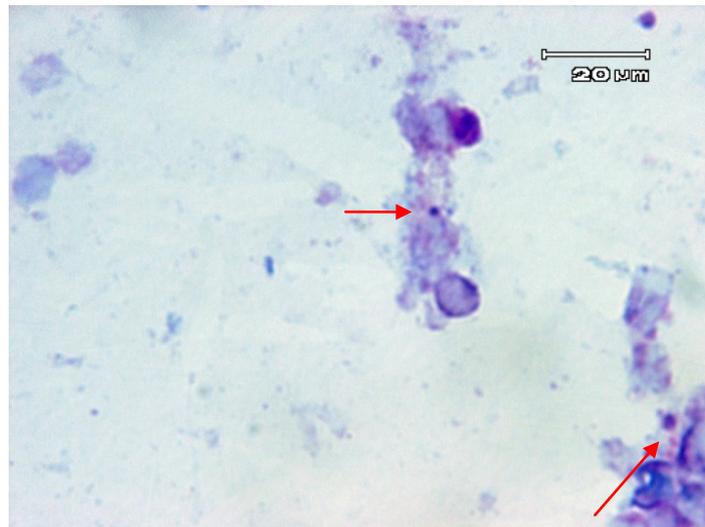
ini dibuktikan dengan gambar hasil mikroskopis preparat apus sumsum tulang menciit (gambar 13), terlihat eritrosit normal tanpa adanya MNPCE



Gambar 13. Gambar Mikroskopis Sel Eritrosit Normal Kelompok III dengan Perbesaran 100X

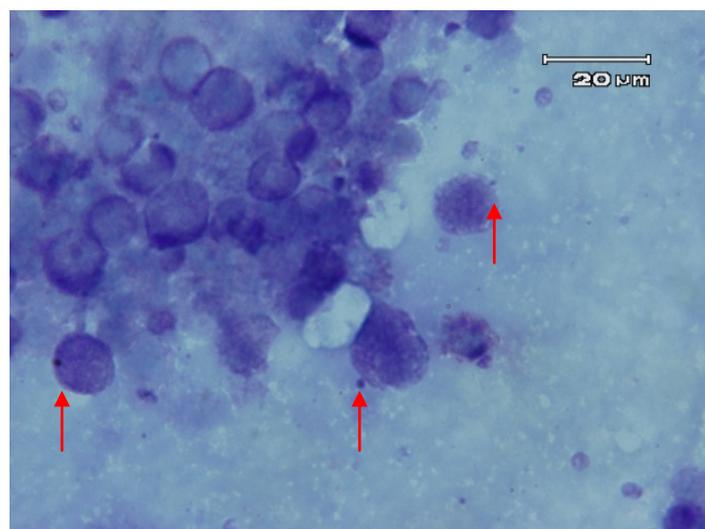
Berdasarkan beberapa penelitian menunjukkan bahwa famili zingiberaceae mengandung senyawa yang bersifat sebagai antimutagenik. Hal tersebut terlihat pada pengamatan kelompok IV dan V. Pada penelitian ini, pemberian ekstrak metanol rimpang lengkuas (famili zingiberaceae) dapat menghambat terjadinya mutasi gen yang ditunjukkan dengan terjadinya penurunan jumlah MNPCE pada preparat apus sumsum tulang.

Pada kelompok IV dengan pemberian ekstrak metanol rimpang lengkuas dosis 300 mg/kg bb dan siklofosamid dosis 50 mg/kg bb, terjadi penurunan jumlah MNPCE sebesar 77,267% (lampiran V) jika dibandingkan dengan kontrol positif. Hasil pengamatan pada kelompok IV secara mikroskopis (gambar 15) memperlihatkan bahwa MN yang terbentuk lebih sedikit jika dibandingkan dengan kelompok II.



Gambar 14. Gambar Mikroskopis MNPCE Kelompok IV dengan Pembesaran 100X

Pengamatan pada kelompok V, dengan perlakuan pemberian ekstrak metanol rimpang lengkuas dosis 600 mg/kg bb dan siklofosfamid dosis 50 mg/kg bb terjadi penurunan persentase jumlah MNPCE lebih kecil jika dibandingkan dengan kelompok IV, yaitu sebesar 63,630% dibandingkan dengan kontrol positif (Lampiran V). Hasil mikroskopis preparat apus sumsum tulang kelompok V dapat dilihat pada gambar 16.



Gambar 15. Gambar Mikroskopis MNPCE Kelompok V dengan Perbesaran 100X

Dari hasil pengamatan dan analisis data terlihat jelas bahwa pemberian ekstrak lengkuas dosis 300 dan 600 mg/kg bb, mampu menghambat mutasi yang disebabkan oleh pemberian siklofosamid dosis 50 mg/kg. Hal ini ditunjukkan dengan adanya persentase penurunan MNPCE jika dibandingkan dengan jumlah MNPCE kelompok kontrol positif (siklofosamid).

Ekstrak dengan dosis 300 mg/kg bb memiliki aktivitas antimutagenik lebih tinggi yaitu sebesar 77,267% dibandingkan aktivitas ekstrak dengan dosis 600 mg/kg bb yaitu 63,630%. Kondisi ini mungkin terjadi karena ekstrak metanol rimpang lengkuas dapat menghambat mutasi secara optimum pada dosis 300 mg/kg bb dibandingkan ekstrak dengan dosis 600 mg/kg bb.

Menurut Herla Rusmalin (2003:4&6) dan Nani widjaja Budi Hartono (2009:42) lengkuas mengandung senyawa *1-acetoxy chavicol acetate* (ACA) yang dapat menghambat aktivitas sel kanker, yang disebabkan oleh transplantasi sel kanker primer manusia. Oleh karena itu terjadinya penurunan jumlah MNPCE ini mungkin disebabkan oleh adanya interaksi antara senyawa ACA yang terkandung dalam ekstrak dengan bahan aktif dalam siklofosamid, sehingga metabolit aktif siklofosamid yang dapat menimbulkan mutasi gen dapat dihambat. Oleh karena itu, dapat dikatakan bahwa ekstrak metanol rimpang lengkuas memiliki aktivitas antimutagenik.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

A. KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian serta pembahasan di atas, maka kesimpulan dari penelitian ini adalah rimpang lengkuas (*Alpinia galanga*) memiliki aktivitas antimutagenik. Hal tersebut ditunjukkan dengan persentase penurunan MNPCE pada dosis 300 mg/kg bb sebesar 77,267% dan pada dosis 600 mg/kg bb sebesar 63,630% jika dibandingkan dengan kontrol positif.

B. SARAN

1. Perlu diadakan penelitian aktivitas antimutagenik ekstrak metanol rimpang lengkuas (*Alpinia galanga*) dengan variasi dosis yang berbeda
2. Perlu dilakukan penelitian untuk mempelajari aktivitas antimutagenik ekstrak metanol rimpang lengkuas terhadap organ selain sumsum tulang.

DAFTAR PUSTAKA

- Aronson, J.K., & Grahame S., D.G. (1992). *Oxford Textbook of Clinical Pharmacology and Drug Therapy*. Tokyo: Oxford University Press.
- Banks, W.J., (1993). *Applied Veterinary Histology, 3rd ed.* Toronto: Mosby Year Book.
- Bosman, F.T. Velde., Vande C.J.H. & Wagener., D. J. T. H. (1990). *Onkologi*. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press.
- Coles, E. H., (1986). *Veterinary Clinical Pathology, 2nded.* Philadelphia: Saunders Company.
- Chaidar Warianto. (2011). *Mutasi*. Universitas Airlangga.
- Czyzewska A., & Mazur, L. Suppressing Effect of WR-2721 on Micronuclei Induced by Cyclophosphamide in Mice. *Teratogenesis, Carcinogenesis, Mutagen* 1995; 15: 109.
- Dellman, H.D. & Brown, E.M. (1989). *Buku Teks Histologi Veteriner 1*. Edisi ke 3, alih bahasa oleh Hartono R dan Juwono S. (judul asli *Text Book Of Veterinary Histology*). Jakarta: UI-press.
- Dian Puspitasari. (2009). Efek Mutagenik Ekstrak Etanol Kulit Batang Hopea Mengarawan (Dipterocarpaceae) Terhadap Gambaran Eritrosit Mencit. *Laporan penelitian*. FK Universitas Gadjah Mada Yogyakarta.
- Didi J.P. Anas Subarnas, Cucu Hardiansyah, & Supriyatna. (2000). *Aktivitas Antimutagenik dan Antioksidan Daun Puspa (Schima wallichii Kort)*. Cermin Dunia Kedokteran. No. 127.
- Frandsen, R. D. (1992). *Anatomi dan fisiologi ternak*. Edisi ke 4, alih bahasa oleh Sri Gondo, B., Praseno, K., dan Soedarsono (judul asli *Anatomy and Physiology of Farm Animals*). Yogyakarta : Gadjah Mada University Press.
- Ghaskadhi, S., Rajmachikar S, Agate C, Kapadi AH., Vaidya VG (1992). *Modulation of Cyclophosphamide Mutagenicity by Vitamin C in The Vivo Rodent Micronucleus Assay. Teratogenesis, Carcinogenesis, Mutagen*. Pp. 12, 11-3.
- Guyton AC & Hall JE. (1997.) *Buku Ajar Fisiologi Kedokteran*. Setiawan I, Tengadi KA, Sentoso A, penerjemah. Ed ke-7. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC. Terjemahan dari: *Textbook of Medical Physiology*.
- Herla Rusmalin. (2003). Aktivitas Anti-kanker Ekstrak Rimpang Lengkuas Lokal (*Alpinia galanga* (L) Sw) pada Alur Sel Kanker Manusia serta Mencit

yang Ditransplantasi dengan Sel Tumor Primer. *Tesis*. Bogor: Program Pasca Sarjana IPB.

Jain, N.C.(1986).*Schalm Veterinary Hematology*, 4th ed. London: Bailere Tindal.

Katzung, B.G. (1998). *Basic and Clinical Pharmacology 7th Edition*. London: Prentice Hall International Inc.

Maksum Radji, Atiek Sumiati &Nuning Indani. (2004). *Uji Mutagenesitas dan Antikanker Ekstrak Aseton dan N-Heksana dari Kulit Batang Sesoot (Garcinia picrororrhiza Miq.)*. Jakarta: Departemen Farmasi UI.

Nani Widjaja Budi Hartono. (2009). Pengaruh *Alpinia galanga* (Lengkuas) Terhadap Aktivitas Apoptosis pada Adenokarsinoma Mamma Mencit C3H. *Tesis*. Semarang: Universitas Diponegoro.

Nur Habibah. Uji Mutagenik Ekstrak Etanol Kulit Batang *Hopea Mengarawan* (Dipterocarpaceae) Terhadap Sumsum Tulang Mencit Secara In Vivo. *Skripsi*. FMIPA Universitas Negeri Yogyakarta.

Ramu, K. (1996). Studies on the Basis for The Toxicity of Acrolein Mercapturates. *Toxicol. Apl Pharmacol*. 140: 487.

Reagan, W.J., Sanders, T.G. & DeNicola, D.B.(1987). *Veterinary Hermatology Atlas of Common domestic Species*. W. B. Saunder compeny Philadelphia. Pp. 288.

Saefudin. (2007). *Hand Out Genetika*. Bandung: Jurusan Pendidikan Biologi FMIPA Universitas Pendidikan Indoesia.

Sigit Udjiana. (2008). Upaya Pengawetan Makanan Menggunakan Ekstrak Lengkuas. *Laporan Penelitian*. Malang: Politeknik Negeri Malang.

Tortora, Funke, and Case. (2001). *Microbiology and Introduction 7th Edition*. New York: an imprint of Adissonm Wesley Longman, Inc.

Tranggono S., Haryadi, Suparmo, A. Murdiati S. Sudarmadji K. Rahayu S. Naruki, dan M. Astuti. 1991. *Bahan Tambahan Makanan (Food Additive)*. Yogyakarta: PAU Pangan dan Gizi Universitas Negeri Yogyakarta

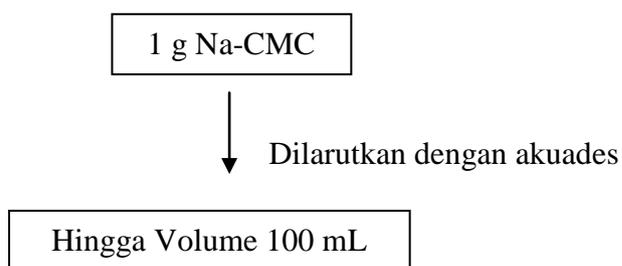
Yanti Lusiyanti & Abdul Wa'id. (1999). *Mikronuklei sebagai Dosimetri Biologi*. Buletin ALARA. 2(3). 21-26.

Zwaveling, A., Zonneveld, V.J. & Schaberg, A. (1895). *Onkologi*. Jakarta: Balai Pustaka.

LAMPIRAN I

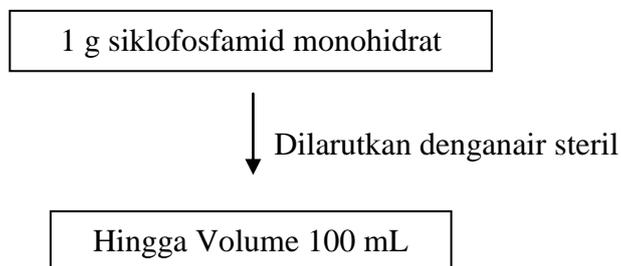
PEMBUATAN BAHAN UJI

A. Pembuatan Larutan Na-CMC 1%



B. Pembuatan Siklofosamid Dosis 50 mg/kg bb

1. Pembuatan Stok Larutan Siklofosamid 1%



2. Pemberian larutan Siklofosamid Dosis 50 mg/kg bb

Jika mencit mempunyai berat 34 gr, maka Siklofosamid yang dibutuhkan adalah:

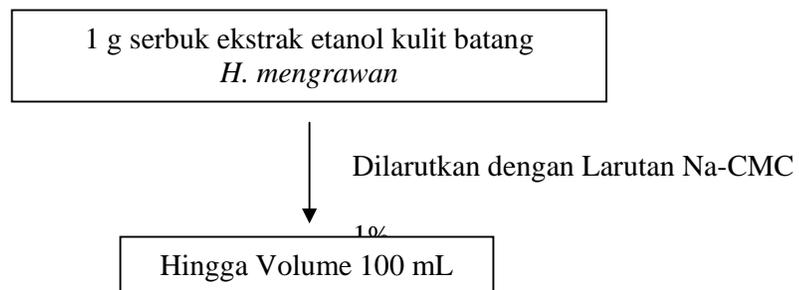
Apabila stok larutan Siklofosfamid dalam air steril yang tersedia adalah 1%, maka yang jumlah larutan yang diinduksikan secara *intraperitoneal* ke hewan uji adalah:

$$\frac{1,7 \text{ mg}}{1000 \text{ mg}} \times 100 \text{ ml} = 0,17 \text{ ml}$$

C. Pembuatan Sediaan Bahan Uji

1. Pembuatan Stok Larutan Ekstrak Etanol Kulit Batang *H. mengrawan*

mengrawan 1%



2. Pemberian Larutan Ekstrak Metanol Rimpang Lengkuas Dosis

300 mg/kg bb

Jika mencit mempunyai berat 34gr, maka ekstrak yang dibutuhkan adalah:

$$\frac{34 \text{ gr}}{1000 \text{ gr}} \times 300 \text{ mg} = 10,2 \text{ mg}$$

Apabila stok larutan ekstrak metanol rimpang lengkuas dalam Na-CMC yang tersedia adalah 1%, maka ekstrak yang diberikan secara *peroral* ke pada mencit adalah:

$$\frac{10,2 \text{ mg}}{1000 \text{ mg}} \times 50 \text{ ml} = 1,02 \text{ ml}$$

3. Pemberian Larutan Ekstrak Metanol Rimpang Lengkuas

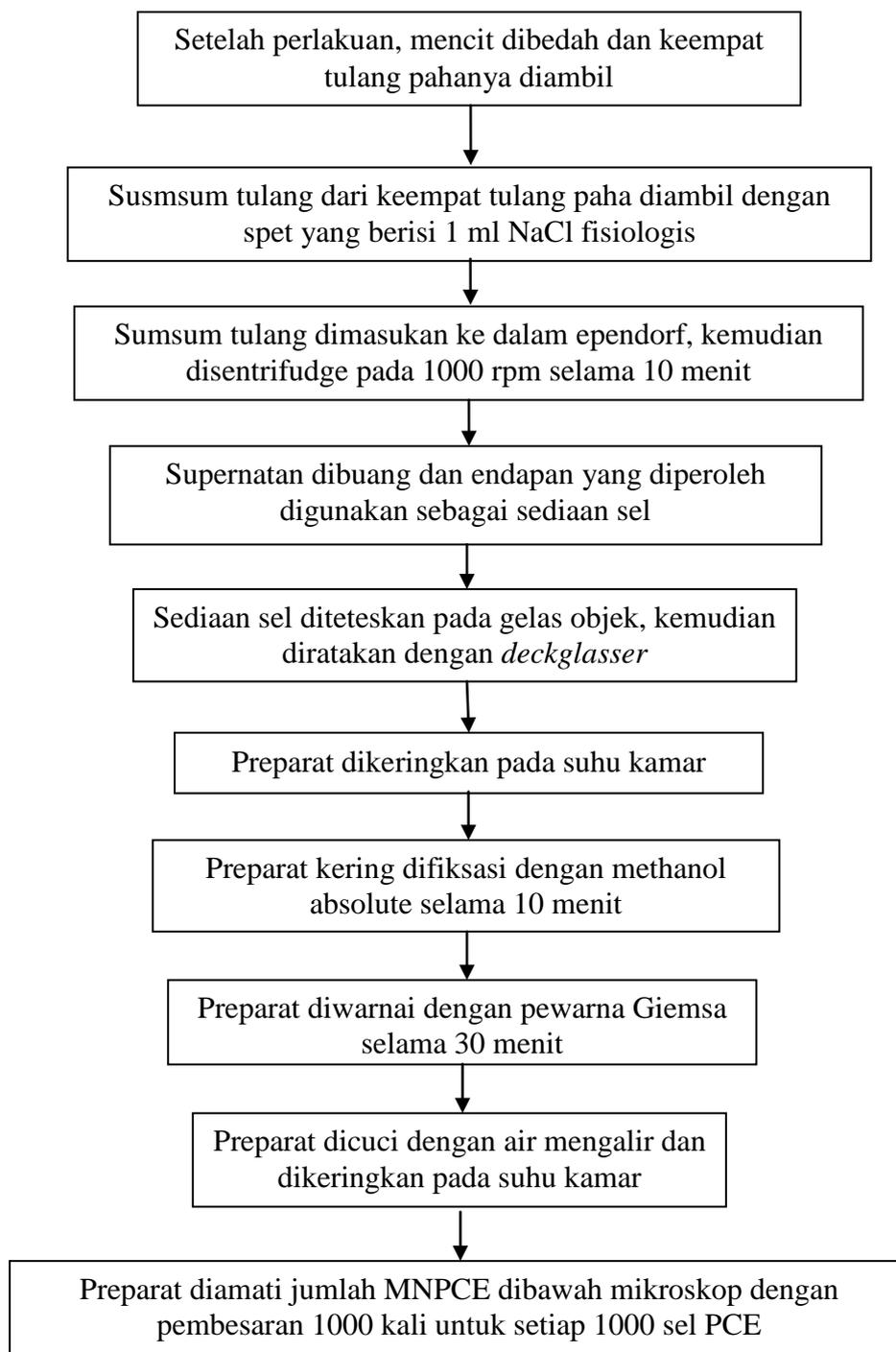
Dosis 600 mg/kg bb

Jika mencit mempunyai berat 34gr, maka ekstrak yang dibutuhkan adalah:

$$\frac{34 \text{ gr}}{1000 \text{ gr}} \times 600 \text{ mg} = 20,4 \text{ mg}$$

Apabila stok larutan ekstrak methanol rimpang lengkuas dalam Na-CMC yang tersedia adalah 1%, maka ekstrak yang diberikan secara *peroral* ke pada mencit adalah:

$$\frac{20,4 \text{ mg}}{1000 \text{ mg}} \times 100 \text{ ml} = 2,04 \text{ ml}$$

LAMPIRAN II**Pembuatan Preparat Apus Sumsum Tulang Mencit**

LAMPIRAN III

Tabel Berat Badan Mencit dan Banyaknya Bahan Uji yang diberikan

Perlakuan	Bahan Uji	BB (g)	V (mL)
Kelompok I	Na- CMC 1%	34,3	0,17
		36,2	0,18
		33,6	0,17
Kelompok II	Larutan S1	33,5	0,17
		34,6	0,17
		35,1	0,18
Kelompok III	Ekstrak L	33,8	0,17
		34,0	0,17
		32,5	0,16
Kelompok IV	Ekstrak L1 + Larutan S1	34,0	1,02* & 0,17**
		34,4	1,03* & 0,17**
		33,4	1,03* & 0,17**
Kelompok V	Ekstrak L2 + Larutan S1	32,4	1,94* & 0,16**
		33,4	2,00* & 0,17**
		36,6	2,20* & 0,18**

Keterangan :

BB : Berat badan mencit (g)

V : Volume bahan uji yang diberikan pada mencit (mL)

Larutan S1 : Larutan siklofosamid dosis 50 mg/kg bb

Ekstrak L : Ekstrak metanol rimpang lengkuas dosis 600 mg/kg bb

Ekstrak LI : Ekstrak metanol rimpang lengkuas dosis 300 mg/kg bb

Ekstrak L2 : Ekstrak metanol rimpang lengkuas dosis 600 mg/kg bb

* : Volume ekstrak metanol rimpang lengkuas dosis 300 dan 600 mg/kg bb

** : Volume larutan siklofosmid dosis 50 mg/kg bb

LAMPIRAN IV

Jumlah MNPCE

Kelompok	Perlakuan	Jumlah MNPCE	Rerata Jumlah MNPCE	Mean \pm Deviasi Standart
Kelompok I	Na- CMC 1%	0	0	-
		0		
		0		
Kelompok II	Larutan S1	7	7,333	10 \pm 1,528
		6		
		9		
Kelompok III	Ekstrak L	0	0	-
		0		
		0		
Kelompok IV	Ekstrak L1 + Larutan S1	0	1,667	7,67 \pm 1,528
		2		
		3		
Kelompok V	Ekstrak L2 + Larutan S1	3	2,667	4,33 \pm 1,528
		4		
		1		

Keterangan :

Larutan S1 : Larutan siklofosfamid dosis 50 mg/kg bb

Ekstrak L : Ekstrak metanol rimpang lengkuas dosis 600 mg/kg bb

Ekstrak L1 : Ekstrak metanol rimpang lengkuas dosis 300 mg/kg bb

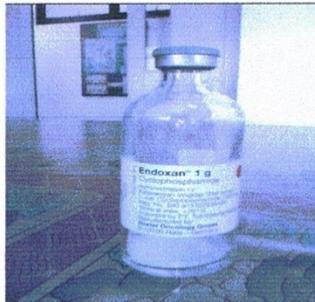
Ekstrak L2 : Ekstrak metanol rimpang lengkuas dosis 600 mg/kg bb

LAMPIRAN V

Perhitungan Prosentase Penurunan Frekuensi Jumlah MNPCE

Aktivitas antimutagenik ditunjukkan dengan prosentase penurunan jumlah MNPCE pada masing-masing dosis ekstrak. Prosentase penurunan ini dihitung dengan menggunakan rumus:

LAMPIRAN VI
FOTO DOKUMENTASI



Serbuk Siklofosfamid



Air Steril



Larutan NaCl



Larutan NaCl



Akuades



Ekstrak kunci pepet



Larutan metanol



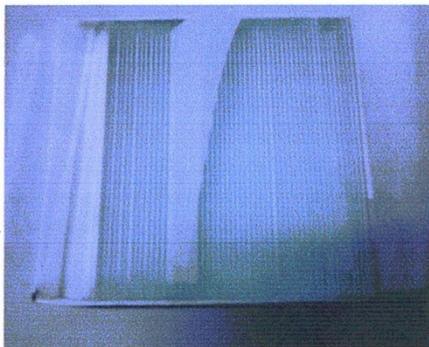
Pewarna pada saat perlakuan mencit



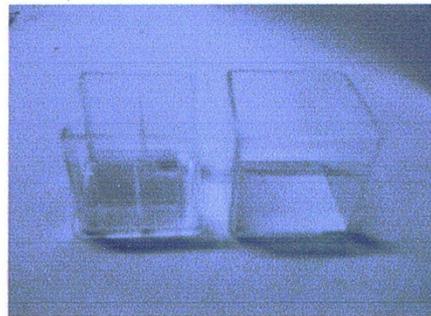
Spet (Jarum injeksi)



Alat Pembedahan hewan mencit



Kaca preparat



Kaca preparat



Wadah Mencit



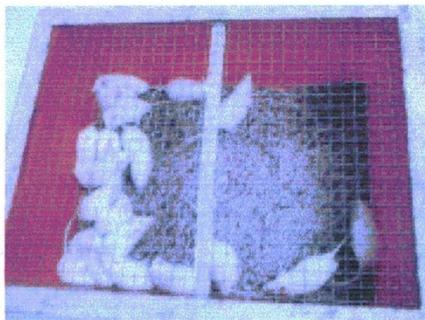
Pellet untuk pakan mencit



Timbangan Katalitik



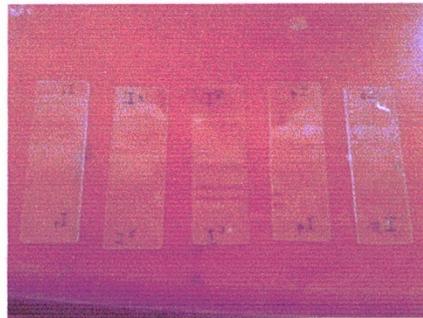
Sentrifugasi



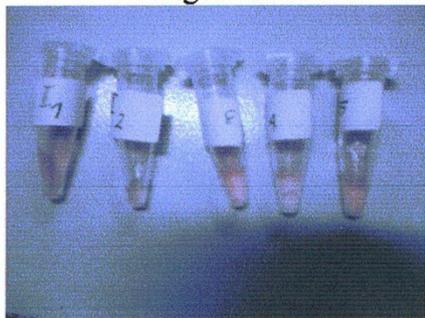
Kondisi mencit dalam kandang



Injeksi mencit



Preparat Apus Sumsum Tulang Sel Eritrosit Mencit pada perlakuan kelompok I dengan larutan Na-CMC tanpa pemberian siklofosfamid



Preparat Apus Sumsum Tulang Sel Eritrosit Mencit pada perlakuan kelompok II dengan pemberian siklofosfamid