

Efek sitotoksitas ekstrak etanol 70% curcuma xanthorrhiza roxb. Terhadap sel raw 264.7 yang diinduksi lipopolisakarida (lps)

Fika Alifiana¹, Monica Dewi Ranggaini², Johni Halim²

¹Mahasiswa, Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Trisakti

²Departemen Biologi Oral, Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Trisakti

Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Trisakti, Indonesia

Jl. Kyai Tapa No. 1, RT/RW 05/09, Tomang, Grogol Petamburan, Jakarta Barat, 11440.

Telepon: (021) 5655786, Email: monica.dewi.r@trisakti.ac.id

ABSTRACT

Background: *Curcuma xanthorrhiza* Roxb. has bioactive compounds that are beneficial as anti-inflammatory. To get these compounds need to be extracted. Ethanol 70% can increase the solubility of both polar and non-polar compounds. RAW 264.7 cells with LPS induction cause an inflammatory state due to the active pro-inflammatory cytokines. To suppress the development of inflammation, a cytotoxicity test can be carried out to see the toxic nature of the extract against inflamed cells. **Goals:** To determine the cytotoxicity effect of 70% ethanol extract of *C. xanthorrhiza* on LPS-induced RAW 264.7 cells. **Methods:** In vitro laboratory experimental research. Preparation of extracts of *C. xanthorrhiza* Roxb. carried out with 70% ethanol then made concentrations of 200, 100, 50, 25, 12.5, 6.25, and 3.125 g/mL. Cytotoxicity was tested using the MTS. Untreated culture medium was used as a negative control and a positive control of diclofenac sodium. Then it was incubated for 24 hours at 37°C. After 24 hours of incubation, MTS was added to the plate and incubated again for 3 hours. The results were read using spectrophotometry. The resulting absorption is equivalent to living cells. The research data were analyzed using one-way ANOVA and Dunnet T3 tests. **Results:** Extracts of *C. xanthorrhiza* with concentrations of 200 and 100 g/mL were weakly cytotoxic and at concentrations of 50, 25, 12.5, 6.25, and 3.125 g/mL showed non-toxic effects on LPS-induced RAW 264.7 cells. Based on the IC₅₀, *C. xanthorrhiza* Roxb. extract had a strong cytotoxic effect on LPS-induced RAW 264.7 cells. **Conclusion:** *C. xanthorrhiza* extract was toxic to LPS-induced RAW 264 cells.

Keywords: *C. xanthorrhiza* Roxb., RAW 264.7 cells, LPS, 70% ethanol, cytotoxicity.

PENDAHULUAN

Indonesia merupakan salah satu negara dengan keanekaragaman hayati melimpah yang dapat dimanfaatkan sebagai bahan pengobatan suatu penyakit.1 Penggunaan tanaman sebagai bahan obat telah banyak dilakukan karena efek sampingnya yang lebih sedikit dibandingkan dengan obat sintesis sehingga lebih aman untuk digunakan dalam jangka waktu yang lama.2 Di Indonesia terdapat 7000 dari sekitar 30.000 jenis tanaman dilaporkan memiliki khasiat sebagai bahan untuk pengobatan.3 Salah satu tanaman yang memiliki potensi tinggi sebagai bahan obat ialah temulawak yang memiliki nama ilmiah *Curcuma xanthorrhiza* Roxb.4

Curcuma xanthorrhiza Roxb. merupakan jenis tanaman asli Indonesia dari golongan Zingiberaceae yang telah diidentifikasi sebagai salah satu tanaman obat unggulan hingga saat ini oleh Departemen Kesehatan Indonesia.5,6 Aktivitas farmakologis yang dimilikinya ialah antikanker, antibakteri, antiinflamasi, antioksidan, antihiperlipidemia, dan antihipertensi.7 Sifat farmakologis *C. xanthorrhiza* disebabkan oleh kandungan fitokimianya seperti alkaloid, fenol, triterpenoid, terpenoid dan flavonoid yang terkandung di dalamnya.2 Kandungan senyawa kimia lainnya pada *C. xanthorrhiza* yang aktif secara fisiologis seperti kurkuminoid dan minyak atsiri dilaporkan memiliki aktivitas antiinflamasi.8

Inflamasi terjadi sebagai bentuk mekanisme pertahanan tubuh manusia terhadap rangsangan bahaya, seperti: adanya patogen, senyawa toksik, atau kerusakan sel. Inflamasi yang terjadi terus-menerus dan tidak terkontrol dapat berubah menjadi keadaan kronis serta merusak jaringan tubuh sehingga mengakibatkan

timbulnya penyakit kronis.9,10 Golongan non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) menjadi obat antiinflamasi yang paling sering digunakan. Penggunaan NSAIDs jangka panjang dapat menyebabkan beberapa efek samping yang merugikan diantaranya stroke, hipertensi, perdarahan pada saluran gastrointestinal, hingga toksisitas ginjal.11 Untuk meminimalkan efek samping yang timbul akibat penggunaan NSAIDs jangka panjang, maka dibutuhkan eksplorasi agen antiinflamasi baru dengan toksisitas yang lebih rendah. Tumbuhan dan fitokonstituennya dapat menjadi salah satu sumber antiinflamasi baru yang menjanjikan dan menarik.12

Salah satu model yang tepat untuk mengevaluasi dan menyaring agen antiinflamasi dari suatu ekstrak tumbuhan adalah sel RAW 264.7 yang diinduksi lipopolisakarida (LPS).13 Sel RAW 264.7 merupakan cell line yang berasal dari makrofag mencit Balb/c yang diinduksi virus leukemia murine Abelson dan banyak digunakan sebagai model penelitian untuk mempelajari respon imun tubuh khususnya respon imun non spesifik.14 Terdapat banyak sel yang terlibat pada respon inflamasi, salah satunya makrofag.15 Makrofag berperan penting dalam proses inflamasi karena merupakan pertahanan pertama terhadap mikroorganisme dan mengontrol infeksi bakteri pada sistem imun non spesifik.16 Induksi LPS dapat meningkatkan ekspresi mRNA dari mediator dan sitokin inflamasi yang dapat merangsang respon imunitas bawaan tubuh.15

Sebelum digunakan sebagai bahan obat, tanaman perlu dilakukan uji sitotoksitas untuk mengetahui tingkat keamanan suatu zat.17 Uji sitotoksitas merupakan suatu

uji yang memberikan informasi mengenai konsentrasi senyawa yang masih memungkinkan untuk suatu sel bertahan hidup (viabilitas).¹⁸ Salah satu metode yang dapat dilakukan untuk uji sitotoksitas adalah MTS (3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-5-(3-carboxymethoxyphenyl)-2-(4-sulfophenyl)-2H-tetrazolium). Uji MTS adalah salah satu uji yang mengukur viabilitas sel dengan melihat aktivitas metabolisme sel.¹⁹ Uji MTS dipilih karena langkahnya lebih sederhana, indikasinya lebih cepat, karena MTS dapat langsung dikonversi menjadi produk formazan yang langsung larut dalam media kultur.²⁰

Dalam pemanfaatan *C. xanthorrhiza* sebagai bahan obat hal pertama yang perlu dilakukan ialah mendapatkan ekstraknya melalui proses ekstraksi. Salah satu metode ekstraksi yang dapat dilakukan ialah maserasi karena metode ini menghindari kerusakan senyawa termolabil.²¹ Pelarut yang dapat digunakan dalam ekstraksi maserasi salah satunya adalah etanol. Etanol adalah pelarut semi-polar yang sering digunakan karena kemampuannya melarutkan senyawa yang bersifat polar maupun non polar.²² Perbedaan konsentrasi pelarut etanol sangat mempengaruhi kepolaran pelarut. Senyawa atau bahan alam yang dilarutkan dalam etanol 70% kelarutannya lebih meningkat, sedangkan dalam konsentrasi etanol diatas 70% kelarutannya akan mengalami penurunan.²³

Pada penelitian sebelumnya dikatakan bahwa ekstrak *C. xanthorrhiza* dengan konsentrasi 2,5%, 5%, 7%, dan 10% dapat meningkatkan viabilitas sel normal neutrofil yang dipapar dengan *Streptococcus mutans* dengan konsentrasi paling efektifnya ialah 5%.²⁴ Penelitian lain juga menyebutkan bahwa efek ekstrak etanol *C. xanthorrhiza* terhadap viabilitas sel tergantung pada konsentrasi serta lamanya waktu pemberian ekstrak. Dalam penelitian tersebut dikatakan bahwa peningkatan konsentrasi serta waktu perlakuan ekstrak *C. xanthorrhiza* dilaporkan mampu menurunkan viabilitas pada cell line HONE-1.²⁵ Berdasarkan uraian diatas peneliti tertarik untuk melakukan uji sitotoksitas ekstrak etanol 70% *C. xanthorrhiza* yang diekstraksi menggunakan metode maserasi pada sel RAW 264.7 yang diinduksi lipopolisakarida untuk melihat kemampuannya meningkatkan viabilitas sel untuk kemudian menjadi acuan pengembangan obat antiinflamasi alternatif menggunakan bahan alam.

METODOLOGI

Jenis penelitian ini adalah eksperimental laboratorium (in vitro) dengan rancangan paska perlakuan. Kelompok penelitian ini akan dibagi menjadi dua belas kelompok, kelompok pertama adalah kontrol negatif yaitu kelompok tanpa perlakuan (sel RAW 264.7 tanpa induksi LPS), kelompok kedua adalah kontrol positif yaitu sel RAW 264.7 dengan induksi LPS. Kelompok ketiga merupakan kontrol pelarut, digunakan DMSO 10%. Kelompok perlakuan berupa ekstrak etanol 70% *Curcuma xanthorrhiza* Roxb. dengan konsentrasi sebesar 200 µg/mL, 100 µg/mL, 50 µg/mL, 25 µg/mL, 12.5 µg/mL, 6.25 µg/mL, dan 3.125 µg/mL. Serta digunakan kelompok pembandingan berupa natrium diklofenak dengan konsentrasi 6.25 µg/mL, dan 3.125 µg/mL. Penelitian ini menggunakan uji MTS untuk mengukur kemampuan sel bertahan hidup setelah pemberian ekstrak. Viabilitas sel diukur dengan melihat konversi tetrazolium (kuning) menjadi kristal formazan (ungu). Kemudian absorbansi diukur menggunakan spektrofotometri dengan panjang gelombang 490 nm. Hasil pengukuran akan dimasukkan kedalam analisis probit untuk menentukan nilai IC50.

Analisis data akan dilakukan menggunakan uji ANOVA yang kemudian dilanjutkan dengan uji Dunnett T3.

HASIL

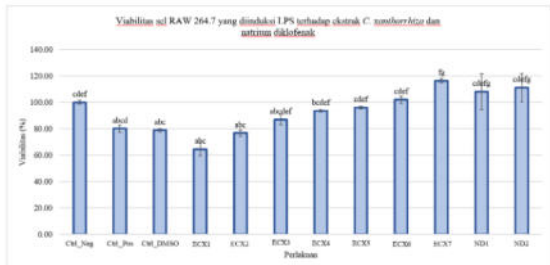
Penelitian ini diawali dengan mengidentifikasi zat-zat aktif yang terkandung didalam ekstrak etanol 70% *C. xanthorrhiza* Roxb. yang diperoleh dari PT. Aretha Medika Utama, Bandung, Jawa Barat. Berdasarkan hasil uji fitokimia didapatkan bahwa ekstrak etanol 70% *C. xanthorrhiza* Roxb. pada penelitian ini mengandung senyawa flavonoid, fenol, triterpenoid, dan alkaloid.²⁵ Penelitian ini bertujuan untuk melihat efek sitotoksitas ekstrak *C. xanthorrhiza* Roxb. terhadap sel RAW 264.7 yang diinduksi LPS, serta digunakan natrium diklofenak sebagai pembandingan. Sitotoksitas setiap kelompok perlakuan diukur menggunakan spektrofotometer dengan panjang gelombang 490 nm.

Tabel 1. Hasil uji sitotoksitas ekstrak etanol 70% *C. xanthorrhiza* pada sel RAW yang diinduksi LPS.

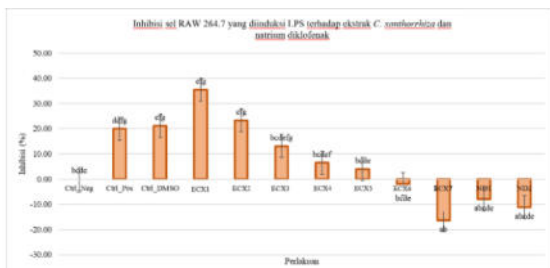
Notasi	Perlakuan	Viabilitas Sel (%)	Inhibisi Sel (%)
Ctrl_Neg	Kontrol Negatif	100.00 ± 1.63 ^{cdef}	0.00 ± 1.63 ^{bcde}
Ctrl_Pos	Kontrol Positif	80.06 ± 2.61 ^{abcd}	19.94 ± 2.61 ^{defg}
Ctrl_DMSO	Kontrol DMSO	78.88 ± 1.26 ^{abc}	21.12 ± 1.26 ^{efg}
ECX1	Ekstrak <i>C. xanthorrhiza</i> 1 (200 µg/mL)	64.53 ± 5.02 ^{abc}	35.47 ± 5.02 ^{efg}
ECX2	Ekstrak <i>C. xanthorrhiza</i> 2 (100 µg/mL)	76.73 ± 2.41 ^{abc}	23.27 ± 2.41 ^{efg}
ECX3	Ekstrak <i>C. xanthorrhiza</i> 3 (50 µg/mL)	86.91 ± 3.95 ^{abcdef}	13.09 ± 3.95 ^{bcdefg}
ECX4	Ekstrak <i>C. xanthorrhiza</i> 4 (25 µg/mL)	93.54 ± 0.75 ^{bcdef}	6.46 ± 0.75 ^{bcdef}
ECX5	Ekstrak <i>C. xanthorrhiza</i> 5 (12.5 µg/mL)	96.00 ± 0.91 ^{cdef}	4.00 ± 0.91 ^{bcde}
ECX6	Ekstrak <i>C. xanthorrhiza</i> 6 (6.25 µg/mL)	101.95 ± 2.74 ^{cdef}	-1.95 ± 2.74 ^{bcde}
ECX7	Ekstrak <i>C. xanthorrhiza</i> 7 (3.125 µg/mL)	116.32 ± 1.55 ^{fg}	-16.32 ± 1.55 ^{ab}
ND1	Natrium diklofenak 6.25 µg/mL	107.98 ± 13.43 ^{cdefg}	-7.13 ± 13.43 ^{abcde}
ND2	Natrium diklofenak 3.125 µg/mL	111.15 ± 10.71 ^{cdefg}	-11.15 ± 10.71 ^{abcde}

Diketahui bahwa dosis ekstrak *C. xanthorrhiza* (ECX) meningkatkan viabilitas dan menurunkan inhibisi sel RAW 264.7 yang diinduksi LPS berdasarkan penurunan

konsentrasi. Pada konsentrasi ECX1 yaitu 200 µg/mL menunjukkan persen viabilitas terkecil dengan inhibisi terbesar dan pada konsentrasi terendah yaitu ECX7 3.125 µg/mL menunjukkan persen viabilitas terbesar dengan inhibisi terkecil yang tidak terlalu berbeda signifikan dengan kontrol pembandingnya yaitu obat natrium diklofenak pada konsentrasi 6.25 µg/mL dan 3.125 µg/mL.



Gambar 1. Grafik viabilitas sel RAW 264.7 yang diinduksi LPS terhadap ekstrak C. xanthorrhiza dan natrium diklofenak.



Gambar 2. Grafik inhibisi sel RAW 264.7 yang diinduksi LPS terhadap ekstrak C. xanthorrhiza dan natrium diklofenak.

Pada Gambar 1 dan 2, terlihat bahwa nilai viabilitas sel dari penelitian ini berbanding terbalik dengan nilai persentase inhibisi. Semakin tinggi dosis ECX maka viabilitas sel semakin rendah tetapi persentase inhibisi semakin tinggi, namun sebaliknya, semakin rendah dosis ECX maka viabilitas sel semakin tinggi serta persentase inhibisinya semakin rendah. Ekstrak C. xanthorrhiza dengan konsentrasi 50; 25; 12.5; 6.25; 3.125 µg/mL pada sel RAW 264.7 yang diinduksi LPS dianggap aman atau tidak toksik karena memiliki nilai viabilitas diatas 80% dengan inhibisi yang rendah yaitu dibawah 20%, sedangkan ekstrak C. xanthorrhiza pada konsentrasi 200 µg/mL dan 100 µg/mL dianggap toksik terhadap sel RAW 264.7 yang diinduksi LPS karena memiliki nilai viabilitas dibawah 80% dengan nilai inhbsi diatas 20%. Ekstrak C. xanthorrhiza dengan konsentrasi 200 µg/mL memiliki toksisitas tertinggi karena nilai inhibisi mencapai lebih dari 30% dengan viabilitas terendah yaitu 64.53%. Pada pembandingnya yaitu natrium diklofenak dengan konsentrasi terendah 6.25 dan 3.125 µg/mL, menunjukkan peningkatan persentase viabilitas berdasarkan penurunan konsentrasi. Persen viabilitas pada perlakuan natrium diklofenak dengan konsentrasi terendahnya 3.125 µg/mL, memiliki nilai viabilitas > 100%.

Berdasarkan hasil uji normalitas dengan metode Shapiro-Wilk yang dapat dilihat pada Tabel 2, diketahui bahwa data konsentrasi ekstrak etanol 70% C. xanthorrhiza terdistribusi normal $p > 0.05$ maka uji dilanjutkan dengan uji one-way ANOVA.

Tabel 2. Hasil uji normalitas Shapiro-Wilk

Treatment		Shapiro-Wilk			
		Statistic	df	Sig.	
Viability	Negative control	.979	3	.724	
	Positive control	.943	3	.540	
	DMSO control	.925	3	.470	
	EKT1	.944	3	.544	
	EKT2	.995	3	.862	
	EKT3	.859	3	.264	
	EKT4	.959	3	.612	
	EKT5	.821	3	.166	
	EKT6	.995	3	.860	
	EKT7	.891	3	.359	
	ND1	.914	3	.432	
	ND2	.972	3	.677	
	Inhibisi	Negative control	.979	3	.724
		Positive control	.943	3	.540
DMSO control		.925	3	.470	
EKT1		.944	3	.544	
EKT2		.995	3	.862	
EKT3		.859	3	.264	
EKT4		.959	3	.612	
EKT5		.821	3	.166	
EKT6		.995	3	.860	
EKT7		.891	3	.359	
ND1		.914	3	.432	
ND2		.972	3	.677	

Berdasarkan hasil uji one-way ANOVA pada Tabel 3. Menunjukkan terdapat perbedaan yang signifikan $p < 0.05$ dengan hasil sig. 0.000.

Tabel 3. Hasil uji one-way ANOVA pada data viabilitas dan inhibisi sel RAW 264.7 yang diinduksi LPS setelah perlakuan kontrol

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Viability	Between Groups	8144.427	11	740.402	24.416	.000
	Within Groups	727.787	24	30.324		
	Total	8872.214	35			
Inhibisi	Between Groups	8144.427	11	740.402	24.416	.000
	Within Groups	727.787	24	30.324		
	Total	8872.214	35			

Hasil uji one-way ANOVA dilanjutkan dengan uji Dunnet T3 karena terdapat perbedaan yang signifikan $p < 0.05$. Hasil uji Dunnet T3 pada Tabel 4 dan 5 terlihat perbedaan signifikan pada seluruh kontrol sebesar 0.05.

Tabel 4. Nilai signifikansi hasil Dunnet T3 pada viabilitas sel RAW 264.7 yang diinduksi LPS setelah perlakuan kontrol

Treatment	N	Subset alpha = 0.05						
		1	2	3	4	5	6	7
EKT1	3	64.53	64.53	64.53				
EKT2	3	76.73	76.73	76.73				
DMSO control	3	78.88	78.88	78.88				
Positive control	3	80.06	80.06	80.06	80.06			
EKT3	3	86.91	86.91	86.91	86.91	86.91	86.91	
EKT4	3		93.54	93.54	93.54	93.54	93.54	
EKT5	3			96.00	96.00	96.00	96.00	
Negative control	3			100.00	100.00	100.00	100.00	
EKT6	3			101.95	101.95	101.95	101.95	
ND1	3			107.98	107.98	107.98	107.98	107.98
ND2	3			111.15	111.15	111.15	111.15	111.15
EKT7	3						116.32	116.32

Tabel 5. Nilai signifikansi hasil Dunnet T3 pada inhibisi sel RAW 264.7 yang diinduksi LPS setelah perlakuan kontrol

Treatment	N	Subset alpha = 0.05						
		1	2	3	4	5	6	7
EKT7	3	16.32	16.32					
ND2	3	11.15	11.15	-11.15	-11.15	-11.15		
ND1	3	-7.98	-7.98	-7.98	-7.98	-7.98		
EKT6	3		-1.95	-1.95	-1.95	-1.95		
Negative control	3		0.00	0.00	0.00	0.00		
EKT5	3		4.00	4.00	4.00	4.00		
EKT4	3		6.46	6.46	6.46	6.46	6.46	
EKT3	3		13.09	13.09	13.09	13.09	13.09	13.09
Positive control	3				19.94	19.94	19.94	19.94
DMSO control	3					21.12	21.12	21.12
EKT2	3					23.27	23.27	23.27
EKT1	3					35.47	35.47	35.47

DISKUSI

Sifat farmakologis tanaman *Curcuma xanthorrhiza* Roxb. yang dapat dimanfaatkan sebagai salah satu alternatif pengobatan inflamasi diduga berasal dari kandungan senyawa bioaktifnya. Komponen senyawa bioaktif yang dipergunakan dalam penelitian ini diperoleh dari proses ekstraksi dari tanaman *C. xanthorrhiza* Roxb dengan menggunakan etanol 70% sebagai pelarut. Pemilihan etanol 70% sebagai pelarut dikarenakan berbagai keunggulan yang dimilikinya dibandingkan dengan pelarut lain, karena tergolong pelarut yang baik untuk ekstraksi polifenol dan aman untuk dikonsumsi manusia atau tidak toksik serta dapat melarutkan baik molekul polar maupun molekul non polar.²⁶ Jenis pelarut merupakan salah satu faktor yang dapat mempengaruhi hasil ekstraksi senyawa bioaktif pada suatu tanaman.

Hasil uji fitokimia ekstrak etanol 70% *C. xanthorrhiza* Roxb. menunjukkan adanya kandungan flavonoid, fenol, triterpenoid, terpenoid, dan alkaloid.²⁵ Pada penelitian Marlioni et al., menghasilkan hasil yang berbeda yaitu terdapat senyawa steroid/triterpenoid, flavonoid dan polifenol.²⁷ Hal ini mungkin terjadi karena pelarut yang berbeda menghasilkan hasil ekstraksi yang berbeda pula, hal ini dapat terjadi karena perbedaan polaritas pelarut ekstraksi dapat menyebabkan variasi yang luas dalam tingkat senyawa bioaktif dalam suatu ekstrak tanaman.²⁸

Pada hasil uji fitokimia ekstrak etanol 70% *C. xanthorrhiza* Roxb, senyawa yang terkandung sangat tinggi ialah terpenoid, triterpenoid, serta alkaloid. Sedangkan kandungan flavonoid dan fenol pada ekstrak ini tergolong sedang. Terpenoid telah dibuktikan memiliki sifat antiinflamasi yang kuat serta sifat imunomodulator dalam beberapa gangguan inflamasi.²⁹ Triterpenoid dan flavonoid memiliki potensi sebagai antiinflamasi karena

kemampuannya dalam menstabilkan membran sel darah yang akan mengganggu proses awal fase inflamasi.³⁰ Alkaloid dilaporkan memiliki aktivitas antibakteri yang tinggi.³¹

Dalam pencarian tanaman obat untuk menghambat perkembangan inflamasi, dapat dilakukan uji sitotoksitas untuk mengetahui nilai IC50 senyawa tersebut. IC50 menunjukkan nilai konsentrasi yang mengakibatkan 50% penghambatan proliferasi sel. Hal ini dapat menunjukkan potensi toksisitas senyawa terhadap sel, semakin kecil nilai IC50 maka semakin toksik senyawa tersebut.³² Menurut penelitian Salleh et al., ekstrak *C. xanthorrhiza* dengan pelarut etanol menunjukkan penghambatan yang lebih tinggi dengan nilai IC50 22,76 g/mL dibandingkan dengan ekstrak air *C. xanthorrhiza* dengan nilai IC50 110,71 g/mL. Hal ini kemungkinan terjadi karena kandungan konstituen yang lebih tinggi seperti fenol, flavonoid, terpenoid, saponin dan glikosida pada ekstrak etanol *C. xanthorrhiza* dibandingkan dengan ekstraksi menggunakan pelarut air.³³ Kandungan fenolik yang tinggi akan menghasilkan IC50 yang rendah.³⁴

Pada penelitian ini dilaporkan nilai IC50 dari ekstrak etanol 70% *C. xanthorrhiza* sebesar 11.683 µg/mL. Hasil tersebut lebih kecil dari 50 µg/mL yang artinya terdapat salah satu atau lebih komponen ekstrak etanol 70% dari *C. xanthorrhiza* Roxb. memiliki aktivitas sitotoksik kuat terhadap sel RAW 264.7 yang diinduksi LPS. Hasil ini juga membuktikan bahwa ekstrak etanol 70% *C. xanthorrhiza* tergolong senyawa antioksidan sangat kuat.³⁵ Hal ini dikarenakan, semakin kecil nilai IC50 maka semakin tinggi aktivitas antioksidannya.³⁶ Antioksidan memiliki kaitan yang erat dengan aktivitas antiinflamasi. Antioksidan bekerja sebagai penghambat stress oksidatif yang dapat terjadi karena adanya kadar radikal bebas berlebihan yang kemudian memicu kerusakan membran sel, sedangkan senyawa antiinflamasi dapat berfungsi untuk menstabilkan membran sel. Jika membran sel dapat distabilkan, proses awal terjadinya inflamasi seperti pelepasan fosfolipase A2 dapat dicegah karena proses ini akan mengakibatkan terbentuknya prostaglandin yang merupakan salah satu mediator penyebab inflamasi terjadi.³⁷

Hasil uji sitotoksitas menunjukkan bahwa konsentrasi tertinggi yaitu ekstrak *C. xanthorrhiza* 1 (ECX1) dengan konsentrasi 200 µg/mL menunjukkan persen viabilitas terkecil, sedangkan konsentrasi terendah yaitu ECX7 dengan konsentrasi 3.125 µg/mL menunjukkan persen viabilitas tertinggi. Hasil dari penelitian ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Setiawan et al., yang menunjukkan bahwa semakin tinggi dosis ekstrak *C. xanthorrhiza* yang diberikan maka viabilitas sel semakin menurun, hal ini dikarenakan dosis tinggi dapat menyebabkan efek toksik pada sel RAW 264.7.³⁸

Sel RAW 264.7 pada penelitian ini menunjukkan adanya penurunan viabilitas 20% setelah pemberian LPS. Hasil ini sesuai dengan penelitian Park et al., yang menunjukkan bahwa pengobatan menggunakan sel RAW 264.7 dengan induksi LPS secara signifikan menurunkan viabilitas sel dibandingkan dengan sel RAW 264.7 tanpa induksi LPS.³⁹ Nilai viabilitas sel RAW 264.7 yang diinduksi LPS merupakan nilai yang menunjukkan kemampuan bertahan sel RAW 264.7 yang diinduksi LPS terhadap paparan suatu zat asing yang kemungkinan bersifat toksik, sedangkan nilai inhibisi menunjukkan

kemampuan ekstrak *C. xanthorrhiza* dalam menghambat proliferasi sel RAW 264.7 yang diinduksi LPS.

Kontrol positifnya yaitu natrium diklofenak dengan konsentrasi 6.25 dan 3.125 µg/mL menunjukkan viabilitas yang tinggi dan inhibisi yang sangat rendah dibawah 0%. Menurut penelitian Akmalia et al, natrium diklofenak konsentrasi 100 µg/mL memiliki nilai inhibisi yang baik sebesar 76.08% terhadap hemolisis yang dapat menyebabkan inflamasi. Pada penelitian Kurnia et al. yang dilakukan pada human red blood cells (HRBC), natrium diklofenak konsentrasi 20 ppm memiliki nilai inhibisi 26,685% sedangkan pada konsentrasi 100 ppm nilai inhibisinya mencapai 71,268%. Hal ini menunjukkan konsentrasi rendah natrium diklofenak kurang efektif dalam menghambat keadaan inflamasi dibandingkan dengan konsentrasi tinggi natrium diklofenak.

KESIMPULAN DAN SARAN

Hasil dari penelitian ini dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol 70% *C. xanthorrhiza* Roxb. pada rentang konsentrasi 50; 25; 12.5; 6.25; 3.125 µg/mL tidak toksik karena memiliki nilai viabilitas diatas 80% sedangkan pada rentang konsentrasi 200; 100 µg/mL toksik terhadap sel RAW 264.7 yang diinduksi LPS karena memiliki nilai viabilitas dibawah 80%. Perlakuan ekstrak *C. xanthorrhiza* dapat meningkatkan viabilitas dan menurunkan inhibisi sel RAW 264.7 yang diinduksi LPS berdasarkan penurunan konsentrasi. Selain itu, dosis natrium diklofenak 6.25; 3.125 µg/mL sebagai pembandingnya menunjukkan persen viabilitas yang tinggi dengan nilai viabilitas diatas 100%.

Dibutuhkan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui senyawa atau mediator inflamasi yang berhasil dihambat oleh ekstrak etanol 70% *C. xanthorrhiza* Roxb. untuk pengembangan obat antiinflamasi berbahan dasar alam.

DAFTAR PUSTAKA

- Neldawati, Ratnawulan, Gusnedi. Analisis nilai absorbansi dalam penentuan kadar flavonoid untuk berbagai jenis daun tanaman obat. *Pillar Phys.* 2013 Oktober; 2: 76.
- Ngadino, Setiawan, Koerniasari, Ernawati, Sudjarwo SA. Evaluation of antimycobacterial activity of *Curcuma xanthorrhiza* ethanolic extract against *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv in vitro. *Vet World.* 2018 March; 11 (3): 368.
- Lestari P. Studi tanaman khas sumatera utara yang berkhasiat obat. *J Farmanesia.* 2016 November; 3 (1): 11.
- Sarira A, Tambing Y, Lasmini SA. Aplikasi komposisi media tanam dan pupuk kandang pada pertumbuhan dan hasil tanaman temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.). *Agrotekbis E-J Ilmu Pertan.* 2020 Juni; 8 (3): 659.
- Isjwara FRG, Hasanah SN, Utami S, Suniarti DF. Tooth enamel surface micro-hardness with dual species *Streptococcus* biofilm after exposure to Java turmeric (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.) extract. *J Phys Conf Ser.* Agustus 2017 July; 884 (1): 1.
- Sari Putri RM. Si "kuning" temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.) dengan "segudang" khasiat. *J Teknol Pertan.* 2013 November; 2 (2): 43.
- Rohman A, Wijayanti T, Windarsih A, Riyanto S. The authentication of java turmeric (*Curcuma xanthorrhiza*) using thin layer chromatography and 1H-NMR based-metabolite fingerprinting coupled with multivariate analysis. *Molecules.* 2020 August; 25 (17): 3928.
- Dermawanty DE. Potential extract curcuma (*Curcuma xanthorrhiza*, Roxb) as antibacterials. *Fac Med Univeristy Lampung.* 2015 Januari; 4 (1): 6.
- Hikariastri P, Winarno H, Kusmardi K, Laksmiatwati DR, Abdillah S. Aktivitas antiinflamasi crude extract fukoidan dari *Sargassum crassifolium* pada sel RAW 264.7 yang diinduksi LPS. *J Kefarmasian Indones.* 2019 Agustus; 9 (2): 98.
- Li N, Li W. Cytotoxicity and anti-inflammatory activity of tamarillo (*Solanum betaceum* Cav.) peel extract in lipopolysaccharide stimulated RAW 264.7 cells. *E-GiGi.* 2021 Juni; 9 (1): 93.
- Li W, Li N. Uji Sitotoksik dan Anti-Inflamasi Ekstrak Buah Bengkuang (*Pachyrizus erosus* (L.) Urb.) terhadap Sel RAW 264.7 yang Distimulasi Lipopolisakarida. *eBiomedik.* 2020 Juni; 8 (2): 9.
- Patil KR, Mahajan UB, Unger BS, Goyal SN, Belemkar S, Surana SJ, dkk. Animal models of inflammation for screening of anti-inflammatory drugs: implications for the discovery and development of phytopharmaceuticals. *Int J Mol Sci.* 2019 September; 20 (18): 4367.
- Laksmiatwati DR, Prasanti AP, Larasinta N, Syauta GA, Hilda R, Ramadaniati HU, dkk. Anti-inflammatory potential of gandarusa (*Gendarussa vulgaris* Nees) and soursoup (*Annona muricata* L) extracts in LPS stimulated-macrophage cell (RAW264.7). *J Nat Remedies.* 2016 April; 16 (2): 1.
- Sujono TA, Kusumowati ITD, Munawaroh R. Aktivitas imunomodulator ekstrak metanolik dan fraksi buah talok (*Muntingia calabura* L.) pada sel RAW 264.7. *JPSCR J Pharm Sci Clin Res.* 2021 Juli; 6 (2): 82.
- Widowati W, Prahastuti S, Ekayanti NLW, Munshy UZ, Kusuma HSW, Wibowo SHB, dkk. Anti-inflammation assay of black soybean extract and its compounds on Lipopolysaccharide-induced RAW 264.7 cell. *J Phys Conf Ser.* 2019 November; 1374 (1): 51.
- Faris M. Potensi imunomodulator ekstrak cengkeh pada kadar limfosit dan makrofag sebagai mekanisme pertahanan tubuh. *Khazanah J Mhs.* 2020 Desember; 12 (1): 37.
- Sari ER, Nova A, Sahitri L. Skrining senyawa sitotoksik dari ekstrak daun, bunga, buah, batang, dan akar pada tumbuhan senduduk (*Melastoma malabathricum* L.) terhadap larva *Artemia salina* Leach dengan metode brine shrimp lethality bioassay. *Scientia.* 2016 Februari; 6 (1): 66.
- Rohmah J, Rini CS, Wulandari FE. Uji aktivitas sitotoksik ekstrak selada merah (*Lactuca sativa* var. *Crispa*) pada berbagai pelarut ekstraksi dengan metode BSLT (brine shrimp lethality test). 2019 Juni; 4 (1): 26.
- Novalinda DC. Efektifitas Ekstrak Daun Sirih Merah dan Eugenol Terhadap Sel HepG2. Unpri Press; 2020.
- Wang Y, Nguyen DT, Yang G, Anesi J, Chai Z, Charchar F, dkk. An improved 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-5-(3-carboxymethoxyphenyl)-2-(4-sulfophenyl)-2H-tetrazolium proliferation assay to overcome the interference of hydralazine. *ASSAY Drug Dev Technol.* 2020 December; 18 (8): 2.
- Amelinda E, Widarta IWR, Darmayanti LPT. Pengaruh waktu maserasi terhadap aktivitas antioksidan ekstrak rimpang temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.). *J Ilmu Dan Teknol Pangan.* 2018 Desember; 7 (4): 166.
- Shafira ASN, Metusalach, Amir N. Inhibitory activity of distilled water and ethanol extracts of *Moringa oleifera* leaves against enterobacter aerogenes. *Int J Environ Agric Biotechnol.* 2021 Januari; 6 (1): 98.
- Suardi OA. Perbedaan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Rimpang Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.) dan Asam Askorbat (Dengan Metode DPPH, ABTS, dan NO) [skripsi S1]. Jakarta: Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Trisakti; 2022.
- Purnamasari IW, Astuti P, Ermawati T. Viability of neutrophil incubated temulawak (*Curcuma xanthorrhiza*) rhizome extract and exposed by streptococcus mutans. *J Dentomaxillofacial Sci.* 2014 November; 6.
- Ranggaini MD. Ekstrak *Curcuma xanthorrhiza* Roxb. Menginduksi Apoptosis Pada Sel Kanker Nasofaring: Penelusuran Aktivasi B cell lymphoma 2 homology 3-interacting domain death agonist (Bid) Pada cell line HONE-1 [tesis S2]. Jakarta: Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Trisakti; 2018.
- Hikmawanti NPE, Fatmawati S, Asri AW. The effect of ethanol concentrations as the extraction solvent on

- antioxidant activity of Katuk (*Sauropus androgynus* (L.) Merr.) leaves extracts. IOP Conf Ser Earth Environ Sci. 2021 April; 755 (1): 4.
27. Marliani L, Sukmawati IK, Juanda D, Anjani E, Anggraeni I. Penapisan fitokimia, kadar kurkuminoid dan aktivitas antibakteri temu hitam (*Curcuma aeruginosa* (Christm) Roscoe.), temu putih (*Curcuma zedoaria* Roxb.) dan temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.). *Herb-Med J*. 2021 Januari; 4 (1): 61.
 28. Truong DH, Nguyen DH, Ta NTA, Bui AV, Do TH, Nguyen HC. Evaluation of the use of different solvents for phytochemical constituents, antioxidants, and in vitro anti-inflammatory activities of *severinia buxifolia*. *J Food Qual*. 2019 February; 2019: 2.
 29. Sonsoles H, González-Cofrade L, Cuadrado I, de las Heras B. Current status of terpenoids as inflammasome inhibitors. *Biochem Pharmacol*. 2019 November; 172: 2.
 30. Wiranto E, Wibowo MA, Ardiningsih P. Aktivitas antiinflamasi secara in-vitro ekstrak teripang butoh keling (*Holothuria leucospilota* Brandt) dari pulau lemukutan. *JKK*. 2016 Januari; 5 (1): 55.
 31. Casciaro B, Calcaterra A, Cappiello F, Mori M, Loffredo M, Ghirga F, dkk. Nigritanine as a new potential antimicrobial alkaloid for the treatment of *Staphylococcus aureus*-induced infections. *Toxins*. 2019 September; 11 (9): 511.
 32. Haryoto, Muhtadi, Indrayudha P, Azizah T, Andi S. Aktivitas sitotoksik ekstrak etanol tumbuhan sala (*Cynometra ramiflora* Linn) terhadap sel HeLa, T47D, dan WiDR. *J Penelit Sainstek*. 2013 Oktober; 18 (2): 23.
 33. Salleh NM, Ismail S, Ab Halim M. Effects of *Curcuma xanthorrhiza* extracts and their constituents on phase ii drug-metabolizing enzymes activity. *Pharmacogn Res*. 2016 December; 8 (4): 309.
 34. Widodo H, Sismindari, Asmara W, Rohman A. Antioxidant activity, total phenolic and flavonoid contents of selected medicinal plants used for liver diseases and its classification with chemometrics. *J Appl Pharm Sci*. 2019 June; 9 (6): 99–105.
 35. Yanuarti R, Nurjanah N, Anwar E, Hidayat T. Profile of phenolic and antioxidants activity from seaweed extract *Turbinaria conoides* and *Eucheuma cottonii*. *J Pengolah Has Perikan Indones*. 2017 May; 20 (2): 230.
 36. Widyastuti I, Luthfah HZ, Hartono YI, Islamadina R, Can AT, Rohman A. Antioxidant activity of temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.) and its classification with chemometrics. *Indones J Chemom Pharm Anal*. 2021 Februari; 29.
 37. Armadany FI, Wahyuni W, Ardianti M, Mallarangeng ANTA. Uji potensi antiinflamasi ekstrak etanol daun bambu-bambu (*Polygonum pulchrum* Blume) dengan metode stabilisasi membran sel darah merah secara in vitro. *Maj Farmasetika*. 2020 Desember; 4 (1): 148.
 38. Setiawan PYB, Kertia N, Nurrochmad A, Wahyuono S. Synergistic anti-inflammatory effects of *Curcuma xanthorrhiza* rhizomes and *Physalis angulata* herb extract on lipopolysaccharide-stimulated RAW 264.7 cells. *J Appl Pharm Sci*. 2022 July; 12 (7): 91–7.
 39. Park J, Km HD, Lee SH, Kwak CH, Chang YC, Lee YC, dkk. Ascochlorin induces caspase-independent necroptosis in LPS-stimulated RAW 264.7 macrophages. *J Ethnopharmacol*. 2019 April; 239: 111898.
 40. Akmalia RA Hajrah, Rijai L. Aktivitas antinflamasi ekstrak rimpang temu unci (*Boesenbergia pandurata*) secara in-vitro. Dalam: *Proceeding of the 4th Mulawarman Pharmaceuticals Conferences*; 2016 21-22 Oktober; Samarinda: Kalimantan Timur; 2016. P. 289-94.
 41. Kurnia D, Prisdyananti N, Marliani L, Idar, Nurochman Z. Antiinflammatry activity from marine microalgae *Chlorella vulgaris* extract using human red blood cells (HRBC) stability method. *J Kartika Kim*. 2019 November; 2 (2): 61.

Efek sitotoksitas ekstrak etanol 70% curcuma xanthorrhiza roxb. Terhadap sel raw 264.7 yang diinduksi lipopolisakarida (lps)

by Drg. Dewi Ranggaini 2

Submission date: 12-Apr-2023 04:54AM (UTC+0700)

Submission ID: 2061940124

File name: document.pdf (379.18K)

Word count: 4440

Character count: 26196

Efek sitotoksitas ekstrak etanol 70% curcuma xanthorrhiza roxb. Terhadap sel raw 264.7 yang diinduksi lipopolisakarida (lps)

16 Ma Alifiana¹, Monica Dewi Ranggaini², Johni Halim²

¹Mahasiswa, Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Trisakti

²Departemen Biologi Oral, Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Trisakti

Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Trisakti, Indonesia

Jl. Kyai Tapa No. 1, RT/RW 05/09, Tomang, Grogol Petamburan, Jakarta Barat, 11440.

Telepon: (021) 5655786, Email: monica.dewi.r@trisakti.ac.id

ABSTRACT

Background: *Curcuma xanthorrhiza* Roxb. has bioactive compounds that are beneficial as anti-inflammatory. To get these compounds need to be extracted. Ethanol 70% can increase the solubility of both polar and non-polar compounds. RAW 264.7 cells with LPS induction cause an inflammatory state due to the active pro-inflammatory cytokines. To suppress the development of inflammation, a cytotoxicity test can be carried out to see the toxic nature of the extract against inflamed cells. **Goals:** To determine the cytotoxicity effect of 70% ethanol extract *C. xanthorrhiza* on LPS-induced RAW 264.7 cells. **Methods:** In vitro laboratory experimental research. Preparation of extracts of *C. xanthorrhiza* Roxb. carried out with 70% ethanol then made concentration of 200, 100, 50, 25, 12.5, 6.25, and 3.125 g/mL. Cytotoxicity was tested using the MTS. Untreated culture medium was used as a negative control and a positive control of diclofenac sodium. Then it was incubated for 24 hours at 37°C. After 24 hours of incubation, MTS was added to the plate and incubated again for 2 hours. The results were read using spectrophotometry. The resulting absorption is equivalent to living cells. The research data were analyzed using one-way ANOVA and T3 tests. **Results:** Extracts of *C. xanthorrhiza* with concentrations of 20 and 100 g/mL were weakly cytotoxic and at concentrations of 50, 25, 12.5, 6.25, and 3.125 g/mL showed non-cytotoxic effects on LPS-induced RAW 264.7 cells. Based on the IC50, *C. xanthorrhiza* extract had a strong cytotoxic effect on LPS-induced RAW 264.7 cells. **Conclusion:** *C. xanthorrhiza* extract was toxic to LPS-induced RAW 264 cells.

Keywords: *C. xanthorrhiza* Roxb., RAW 264.7 cells, LPS, 70% ethanol, cytotoxicity.

33 PENDAHULUAN

Indonesia merupakan salah satu negara dengan keanekaragaman hayati melimpah yang dapat dimanfaatkan sebagai bahan pengobatan suatu penyakit. Penggunaan nama sebagai bahan obat telah banyak dilakukan karena efek sampingnya yang sedikit dibandingkan dengan obat sintesis sehingga lebih aman untuk digunakan dalam jangka waktu yang lama. Di Indonesia terdapat 7000 dari sekitar 30.000 jenis tanaman dilaporkan memiliki khasiat sebagai bahan untuk pengobatan. Salah satu tanaman yang memiliki potensi tinggi sebagai bahan obat ialah temulawak yang memiliki nama ilmiah *Curcuma xanthorrhiza* Roxb.⁴

Curcuma xanthorrhiza Roxb. merupakan jenis tanaman asli Indonesia dari golongan Zingiberaceae yang telah diidentifikasi sebagai salah satu tanaman obat unggulan hingga saat ini oleh Departemen Kesehatan Indonesia.^{5,6} Aktivitas farmakologis yang dimilikinya ialah antikanker, antibakteri, antiinflamasi, antioksidan, antihiperlipidemik, dan antihipertensi.⁷ Sifat farmakologis *C. xanthorrhiza* disebabkan oleh kandungan fitokimianya seperti alkaloid, fenol, triterpenoid, terpenoid dan flavonoid yang terkandung di dalamnya.² Kandungan senyawa kimia lainnya pada *C. xanthorrhiza* yang aktif secara fisiologis seperti kurkuminoid dan minyak atsiri dilaporkan memiliki aktivitas antiinflamasi.⁸

Inflamasi terjadi sebagai bentuk mekanisme pertahanan tubuh manusia terhadap rangsangan bahaya, seperti: adanya patogen, senyawa toksik, atau kerusakan sel. Inflamasi yang terjadi terus-menerus dan tidak terkontrol dapat berubah menjadi keadaan kronis serta merusak jaringan tubuh sehingga mengakibatkan

37 timbulnya penyakit kronis.^{9,10} Golongan non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) menjadi obat antiinflamasi yang paling sering digunakan. Penggunaan NSAIDs jangka panjang dapat menyebabkan beberapa efek samping yang merugikan diantaranya stroke, hipertensi, perdarahan pada saluran gastrointestinal, hingga toksisitas ginjal.¹¹ Untuk meminimalkan efek samping yang timbul akibat penggunaan NSAIDs jangka panjang, maka dibutuhkan eksplorasi agen antiinflamasi baru dengan toksisitas yang lebih rendah. Tumbuhan dan fitokonstituennya dapat menjadi salah satu sumber antiinflamasi baru yang menjanjikan dan menarik.¹²

Salah satu model yang tepat untuk mengevaluasi dan menyaring agen antiinflamasi dari suatu ekstrak tumbuhan adalah sel RAW 264.7 yang diinduksi lipopolisakarida (LPS).¹³ Sel RAW 264.7 merupakan cell line yang berasal dari makrofag mencit Balb/c yang diinduksi virus leukemia murine Abelson dan banyak digunakan sebagai model penelitian untuk mempelajari respon imun tubuh khususnya respon imun non spesifik.¹⁴ Terdapat banyak sel yang terlibat pada respon inflamasi, salah satunya makrofag.¹⁵ Makrofag berperan penting dalam proses inflamasi karena merupakan pertahanan pertama terhadap mikroorganisme dan mengontrol infeksi bakteri pada sistem imun non spesifik.¹⁶ Induksi LPS dapat meningkatkan ekspresi mRNA dari mediator dan sitokin inflamasi yang dapat merangsang respon imunitas bawaan tubuh.¹⁵

Sebelum digunakan sebagai bahan obat, tanaman perlu dilakukan uji sitotoksitas untuk mengetahui tingkat keamanan suatu zat.¹⁷ Uji sitotoksitas merupakan suatu

uji yang memberikan informasi mengenai konsentrasi senyawa yang masih memunculkan untuk suatu sel bertahan hidup (viabilitas).¹⁸ Salah satu metode yang dapat dilakukan untuk uji sitotoksitas adalah MTS (3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-5-(3-carboxymethoxyphenyl)-2-(4-sulfophenyl)-2H-tetrazolium). Uji MTS adalah salah satu uji yang mengukur viabilitas sel dengan melihat aktivitas metabolisme sel.¹⁹ Uji MTS dipilih karena langkahnya lebih sederhana, indikasinya lebih cepat, karena MTS dapat langsung dikonversi menjadi produk formazan yang langsung larut dalam media kultur.²⁰

Dalam pemanfaatan *C. xanthorrhiza* sebagai bahan obat hal pertama yang perlu dilakukan mendapatkan ekstraknya melalui proses ekstraksi. Salah satu metode ekstraksi yang dapat dilakukan ialah maserasi karena metode ini menghindari kerusakan senyawa termolabil.²¹ Pelarut yang dapat digunakan dalam ekstraksi maserasi salah satunya adalah etanol. Etanol adalah pelarut semi-polar yang sering digunakan karena kemampuannya melarutkan senyawa yang bersifat polar maupun non-polar.²² Perbedaan konsentrasi pelarut etanol sangat mempengaruhi kepolaran pelarut. Senyawa atau bahan alam yang dilarutkan dalam etanol 70% kelarutannya lebih meningkat, sedangkan dalam konsentrasi etanol diatas 70% kelarutannya akan mengalami penurunan.²³

Pada penelitian sebelumnya dikatakan bahwa ekstrak *C. xanthorrhiza* dengan konsentrasi 2,5%, 5%, 7%, dan 10% dapat meningkatkan viabilitas sel normal neutrofil yang dipapar dengan *Streptococcus mutans* dengan konsentrasi paling efektifnya ialah 5%.²⁴ Penelitian lain juga menyebutkan bahwa efek ekstrak etanol *C. xanthorrhiza* terhadap viabilitas sel tergantung pada konsentrasi serta lamanya waktu pemberian ekstrak. Dalam penelitian tersebut dikatakan bahwa peningkatan konsentrasi serta waktu perlakuan ekstrak *C. xanthorrhiza* dilaporkan mampu menurunkan viabilitas pada cell line HONE-1.²⁵ Berdasarkan uraian diatas peneliti tertarik untuk melakukan uji sitotoksitas ekstrak etanol 70% *C. xanthorrhiza* yang diekstraksi menggunakan metode maserasi pada sel RAW 264.7 yang diinduksi lipopolisakarida untuk melihat kemampuannya meningkatkan viabilitas sel untuk kemudian menjadi acuan pengembangan obat antiinflamasi alternatif menggunakan bahan alam.

METODOLOGI

Jenis penelitian ini adalah eksperimental laboratorium (in vitro) dengan rancangan paska perlakuan. Kelompok penelitian ini akan dibagi menjadi dua belas kelompok, kelompok pertama adalah kontrol negatif yaitu kelompok tanpa perlakuan (sel RAW 264.7 tanpa induksi LPS), kelompok kedua adalah kontrol positif yaitu sel RAW 264.7 dengan induksi LPS. Kelompok ketiga merupakan kontrol pelarut, digunakan DMSO 10%. Kelompok perlakuan berupa ekstrak etanol 70% Curcuma xanthorrhiza Roxb. dengan konsentrasi sebesar 200 µg/mL, 100 µg/mL, 50 µg/mL, 25 µg/mL, 12.5 µg/mL, 6.25 µg/mL, dan 3.125 µg/mL. Serta digunakan kelompok pembanding berupa natrium diklofenak dengan konsentrasi 6.25 µg/mL, dan 3.125 µg/mL. Penelitian ini menggunakan uji MTS untuk mengukur kemampuan sel bertahan hidup setelah pemberian ekstrak. Viabilitas sel diukur dengan melihat konversi tetrazolium (uning) menjadi kristal formazan (ungu). Kemudian absorbansi diukur menggunakan spektrofotometri dengan panjang gelombang 490 nm. Hasil pengukuran akan dimasukkan kedalam analisis probit untuk menentukan nilai IC₅₀.

Analisis data akan dilakukan menggunakan uji ANOVA yang kemudian dilanjutkan dengan uji Dunnet T3.

HASIL

Penelitian ini diawali dengan mengidentifikasi zat-zat aktif yang terkandung didalam ekstrak etanol 70% *C. xanthorrhiza* Roxb. yang diperoleh dari PT. Aretha Medika Utama, Bandung, Jawa Barat. Berdasarkan hasil uji fitokimia didapatkan bahwa ekstrak etanol 70% *C. xanthorrhiza* Roxb. pada penelitian ini mengandung senyawa flavonoid, fenol, triterpenoid, dan alkaloid.²⁵ Penelitian ini bertujuan untuk melihat efek sitotoksitas ekstrak *C. xanthorrhiza* Roxb. terhadap sel RAW 264.7 yang diinduksi LPS, serta digunakan natrium diklofenak sebagai pembanding. Sitotoksitas setiap kelompok perlakuan diukur menggunakan spektrofotometer dengan panjang gelombang 490 nm.

Tabel 1. Hasil uji sitotoksitas ekstrak etanol 70% *C. xanthorrhiza* pada sel RAW yang diinduksi LPS.

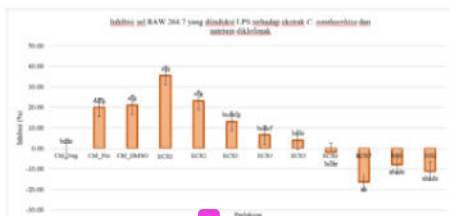
Notasi	Perlakuan	Viabilitas Sel (%)	Inhibisi Sel (%)
Ctrl_Neg	Kontrol Negatif	100.00 ± 1.63 ^{cdef}	0.00 ± 1.63 ^{bde}
Ctrl_Pos	Kontrol Positif	80.06 ± 2.61 ^{abcd}	19.94 ± 2.61 ^{defg}
Ctrl_DMSO	Kontrol DMSO	78.88 ± 1.26 ^{abc}	21.12 ± 1.26 ^{efg}
ECX1	Ekstrak <i>C. xanthorrhiza</i> 1 (200 µg/mL)	64.53 ± 5.02 ^{abc}	35.47 ± 5.02 ^{efg}
ECX2	Ekstrak <i>C. xanthorrhiza</i> 2 (100 µg/mL)	76.73 ± 2.41 ^{abc}	23.27 ± 2.41 ^{efg}
ECX3	Ekstrak <i>C. xanthorrhiza</i> 3 (50 µg/mL)	86.91 ± 3.95 ^{abcdef}	13.09 ± 3.95 ^{bcddefg}
ECX4	Ekstrak <i>C. xanthorrhiza</i> 4 (25 µg/mL)	93.54 ± 0.75 ^{bdef}	6.46 ± 0.75 ^{bdef}
ECX5	Ekstrak <i>C. xanthorrhiza</i> 5 (12.5 µg/mL)	96.00 ± 0.91 ^{cdef}	4.00 ± 0.91 ^{bde}
ECX6	Ekstrak <i>C. xanthorrhiza</i> 6 (6.25 µg/mL)	101.95 ± 2.74 ^{cdef}	-1.95 ± 2.74 ^{bde}
ECX7	Ekstrak <i>C. xanthorrhiza</i> 7 (3.125 µg/mL)	116.32 ± 1.55 ^{fg}	-16.32 ± 1.55 ^{ab}
ND1	Natrium diklofenak 6.25 µg/mL	107.98 ± 13.43 ^{cdefg}	-7.13 ± 13.43 ^{abcde}
ND2	Natrium diklofenak 3.125 µg/mL	111.15 ± 10.71 ^{cdefg}	-11.15 ± 10.71 ^{abcde}

Diketahui bahwa dosis ekstrak *C. xanthorrhiza* (ECX) meningkatkan viabilitas dan menurunkan inhibisi sel RAW 264.7 yang diinduksi LPS berdasarkan penurunan

konsentrasi. Pada konsentrasi ECX1 yaitu 200 µg/mL menunjukkan persen viabilitas terkecil dengan inhibisi terbesar dan pada konsentrasi terendah yaitu ECX7 3.125 µg/mL menunjukkan persen viabilitas terbesar dengan inhibisi terkecil yang tidak terlalu berbeda signifikan dengan kontrol pembanding yaitu obat natrium diklofenak pada konsentrasi 6.25 µg/mL dan 3.125 µg/mL.



Gambar 1. Grafik viabilitas sel RAW 264.7 yang diinduksi LPS terhadap ekstrak C. xanthorrhiza dan natrium diklofenak.



Gambar 2. Grafik inhibisi sel RAW 264.7 yang diinduksi LPS terhadap ekstrak C. xanthorrhiza dan natrium diklofenak.

Pada Gambar 1 dan 2, terlihat bahwa nilai viabilitas sel dari penelitian ini berbanding terbalik dengan nilai persentase inhibisi. Semakin tinggi dosis ECX maka viabilitas sel semakin rendah tetapi persentase inhibisi semakin tinggi, namun sebaliknya, semakin rendah dosis ECX maka viabilitas sel semakin tinggi serta persentase inhibisinya semakin rendah. Ekstrak C. xanthorrhiza dengan konsentrasi 50; 25; 12.5; 6.25; 3.125 µg/mL pada sel RAW 264.7 yang diinduksi LPS dianggap aman atau tidak toksik karena memiliki nilai viabilitas diatas 80% dengan inhibisi yang rendah yaitu dibawah 20%, sedangkan ekstrak C. xanthorrhiza pada konsentrasi 200 µg/mL dan 100 µg/mL dianggap toksik terhadap sel RAW 264.7 yang diinduksi LPS karena memiliki nilai viabilitas dibawah 80% dengan nilai inhibisi diatas 20%. Ekstrak C. xanthorrhiza dengan konsentrasi 200 µg/mL memiliki toksisitas tertinggi karena nilai inhibisi mencapai lebih dari 30% dengan viabilitas terendah yaitu 64.53%. Pada pembandingnya yaitu natrium diklofenak dengan konsentrasi terendah 6.25 dan 3.125 µg/mL, menunjukkan peningkatan persentase viabilitas berdasarkan penurunan konsentrasi. Persen viabilitas pada perlakuan natrium diklofenak dengan konsentrasi terendahnya 3.125 µg/mL, memiliki nilai viabilitas > 100%.

Berdasarkan hasil uji normalitas dengan metode Shapiro-Wilk yang dapat dilihat pada Tabel 2, diketahui bahwa data konsentrasi ekstrak etanol 70% C. xanthorrhiza terdistribusi normal $p > 0.05$ maka uji dilanjutkan dengan uji one-way ANOVA.

Tabel 2. Hasil uji normalitas Shapiro-Wilk

Treatment		Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.
Viability	Negative control	.979	3	.724
	Positive control	.943	3	.540
	DMSO control	.925	3	.470
	EKT1	.944	3	.544
	EKT2	.995	3	.862
	EKT3	.859	3	.264
	EKT4	.959	3	.612
	EKT5	.821	3	.166
	EKT6	.995	3	.860
	EKT7	.891	3	.359
Inhibisi	ND1	.914	3	.432
	ND2	.972	3	.677
	Negative control	.979	3	.724
	Positive control	.943	3	.540
	DMSO control	.925	3	.470
	EKT1	.944	3	.544
	EKT2	.995	3	.862
	EKT3	.859	3	.264
	EKT4	.959	3	.612
	EKT5	.821	3	.166
EKT6	.995	3	.860	
EKT7	.891	3	.359	
ND1	.914	3	.432	
ND2	.972	3	.677	

Berdasarkan uji one-way ANOVA pada Tabel 3. Menunjukkan terdapat perbedaan yang signifikan $p < 0.05$ dengan hasil sig. 0.000.

Hasil uji one-way ANOVA pada data viabilitas dan inhibisi sel RAW 264.7 yang diinduksi LPS setelah perlakuan kontrol

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Viability	Between Groups	8144.427	11	740.402	24.416	.000
	Within Groups	727.787	24	30.324		
	Total	8872.214	35			
Inhibisi	Between Groups	8144.427	11	740.402	24.416	.000
	Within Groups	727.787	24	30.324		
	Total	8872.214	35			

Hasil uji one-way ANOVA dilanjutkan dengan uji Dunnett T3 karena terdapat perbedaan yang signifikan $p < 0.05$. Hasil uji Dunnett T3 pada Tabel 4 dan 5 terlihat perbedaan signifikan pada seluruh kontrol sebesar 0.05.

Tabel 4. Nilai signifikansi hasil Dunnet T3 pada viabilitas sel RAW 264.7 yang diinduksi LPS setelah perlakuan kontrol

Treatment	N	Subset alpha = 0.05						
		1	2	3	4	5	6	7
EKT1	3	64.53	64.53	64.53				
EKT2	3	76.73	76.73	76.73				
DMSO control	3	78.88	78.88	78.88				
Positive control	3	80.06	80.06	80.06	80.06			
EKT3	3	86.91	86.91	86.91	86.91	86.91	86.91	
EKT4	3	93.54	93.54	93.54	93.54	93.54	93.54	
EKT5	3			96.00	96.00	96.00	96.00	
Negative control	3			100.00	100.00	100.00	100.00	
EKT6	3			101.95	101.95	101.95	101.95	
ND1	3			107.98	107.98	107.98	107.98	107.98
ND2	3			111.15	111.15	111.15	111.15	111.15
EKT7	3					116.32	116.32	

Tabel 5. Nilai signifikansi hasil Dunnet T3 pada inhibisi sel RAW 264.7 yang diinduksi LPS setelah perlakuan kontrol

Treatment	N	Subset alpha = 0.05						
		1	2	3	4	5	6	7
EKT7	3	16.32	16.32					
ND2	3	11.15	11.15	-11.15	-11.15	-11.15		
ND1	3	-7.98	-7.98	-7.98	-7.98	-7.98		
EKT6	3	-1.95	-1.95	-1.95	-1.95	-1.95		
Negative control	3	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00		
EKT5	3	4.00	4.00	4.00	4.00	4.00		
EKT4	3	6.46	6.46	6.46	6.46	6.46	6.46	
EKT3	3	13.09	13.09	13.09	13.09	13.09	13.09	13.09
Positive control	3				19.94	19.94	19.94	19.94
DMSO control	3					21.12	21.12	21.12
EKT2	3					23.27	23.27	23.27
EKT1	3						35.47	35.47

DISKUSI

Sifat farmakologis tanaman *Curcuma xanthorrhiza* Roxb. yang dapat dimanfaatkan sebagai salah satu alternatif pengobatan inflamasi diduga berasal dari kandungan senyawa bioaktifnya. Komponen senyawa bioaktif yang dipergunakan dalam penelitian ini diperoleh dari proses ekstraksi dari tanaman *C. xanthorrhiza* Roxb dengan menggunakan etanol 70% sebagai pelarut. Pemilihan etanol 70% sebagai pelarut dikarenakan berbagai keunggulan yang dimilikinya dibandingkan dengan pelarut lain, karena tergolong pelarut yang baik untuk ekstraksi polifenol dan aman untuk dikonsumsi manusia atau tidak toksik serta dapat melarutkan baik molekul polar maupun molekul non polar.²⁴ Jenis pelarut merupakan salah satu faktor yang dapat mempengaruhi hasil ekstraksi senyawa bioaktif pada suatu tanaman.

Hasil uji fitokimia ekstrak etanol 70% *C. xanthorrhiza* Roxb. menunjukkan adanya kandungan flavonoid, fenol, triterpenoid, terpenoid, dan alkaloid.²⁵ Pada penelitian Marliani et al., menghasilkan hasil yang berbeda yaitu terdapat senyawa steroid/triterpenoid, flavonoid dan polifenol.²⁷ Hal ini mungkin terjadi karena pelarut yang berbeda menghasilkan hasil ekstraksi yang berbeda pula, hal ini dapat terjadi karena perbedaan polaritas pelarut ekstraksi dapat menyebabkan variasi yang luas dalam tingkat senyawa bioaktif dalam suatu ekstrak tanaman.²⁸

Pada hasil uji fitokimia ekstrak etanol 70% *C. xanthorrhiza* Roxb, senyawa yang terkandung sangat tinggi ialah terpenoid, triterpenoid, serta alkaloid. Sedangkan kandungan flavonoid dan fenol pada ekstrak ini tergolong sedang. Terpenoid telah dibuktikan memiliki sifat antiinflamasi yang kuat serta sifat imunomodulator dalam beberapa gangguan inflamasi.²⁹ Triterpenoid dan flavonoid memiliki potensi sebagai antiinflamasi karena

kemampuannya dalam menstabilkan membran sel darah yang akan mengganggu proses awal fase inflamasi.³⁰ Alkaloid dilaporkan memiliki aktivitas antibakteri yang tinggi.³¹

Dalam pencarian tanaman obat untuk menghambat perkembangan inflamasi, dapat dilakukan uji sitotoksitas untuk mengetahui nilai IC50 senyawa tersebut. IC50 menunjukkan nilai konsentrasi yang mengakibatkan 50% penghambatan proliferasi sel. Hal ini dapat menunjukkan potensi toksisitas senyawa terhadap sel, semakin kecil nilai IC50 maka semakin toksik senyawa tersebut.³² Menurut penelitian Salleh et al., ekstrak *C. xanthorrhiza* dengan pelarut etanol menunjukkan penghambatan yang lebih tinggi dengan nilai IC50 22,76 g/mL dibandingkan dengan ekstrak air *C. xanthorrhiza* dengan nilai IC50 110,71 g/mL. Hal ini kemungkinan terjadi karena kandungan konstituen yang lebih tinggi seperti fenol, flavonoid, terpenoid, saponin dan glikosida pada ekstrak etanol *C. xanthorrhiza* dibandingkan dengan ekstraksi menggunakan pelarut air.³³ Kandungan fenolik yang tinggi akan menghasilkan IC50 yang rendah.³⁴

Pada penelitian ini dilaporkan nilai IC50 dari ekstrak etanol 70% *C. xanthorrhiza* sebesar 11.683 µg/mL. Hasil tersebut lebih kecil dari 50 µg yang artinya terdapat salah satu atau lebih komponen ekstrak etanol 70% dari *C. xanthorrhiza* Roxb. memiliki aktivitas sitotoksik kuat terhadap sel RAW 264.7 yang diinduksi LPS. Hasil ini juga membuktikan bahwa ekstrak etanol 70% *C. xanthorrhiza* tergolong senyawa antioksidan sangat kuat.³⁵ Hal ini dikarenakan, semakin kecil nilai IC50 maka semakin tinggi aktivitas antioksidannya.³⁶ Antioksidan memiliki kaitan yang erat dengan aktivitas antiinflamasi. Antioksidan bekerja sebagai penghambat stress oksidatif yang dapat terjadi karena adanya kadar radikal bebas berlebihan yang kemudian memicu kerusakan membran sel, sedangkan senyawa antiinflamasi dapat berfungsi untuk menstabilkan membran sel. Jika membran sel dapat distabilkan, proses awal terjadinya inflamasi seperti pelepasan fosfolipase A2 dapat dicegah karena proses ini akan mengakibatkan terbentuknya prostaglandin yang merupakan salah satu mediator penyebab inflamasi terjadi.³⁷

Hasil uji sitotoksitas menunjukkan bahwa konsentrasi tertinggi yaitu ekstrak *C. xanthorrhiza* 1 (ECX1) dengan konsentrasi 200 µg/mL menunjukkan persen viabilitas terkecil, sedangkan konsentrasi terendah yaitu ECX7 dengan konsentrasi 3.12 µg/mL menunjukkan persen viabilitas tertinggi. Hasil dari penelitian ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Setiawan et al., yang menunjukkan bahwa semakin tinggi dosis ekstrak *C. xanthorrhiza* yang diberikan maka viabilitas sel semakin menurun, hal ini dikarenakan dosis tinggi dapat menyebabkan efek toksik pada sel RAW 264.7.³⁸

Sel RAW 264.7 pada penelitian ini menunjukkan adanya penurunan viabilitas 20% setelah pemberian LPS. Hasil ini sesuai dengan penelitian Park et al., yang menunjukkan bahwa pengobatan menggunakan sel RAW 264.7 dengan induksi LPS secara signifikan menurunkan viabilitas sel dibandingkan dengan sel RAW 264.7 tanpa induksi LPS.³⁹ Nilai viabilitas sel RAW 264.7 yang diinduksi LPS merupakan nilai yang menunjukkan kemampuan bertahan sel RAW 264.7 yang diinduksi LPS terhadap paparan suatu zat asing yang kemungkinan bersifat toksik, sedangkan nilai inhibisi menunjukkan

kemampuan ekstrak *C. xanthorrhiza* dalam menghambat proliferasi sel RAW 264.7 yang diinduksi LPS.

Kontrol positifnya yaitu natrium diklofenak dengan konsentrasi 6.25 dan 3.125 µg/mL menunjukkan viabilitas yang tinggi dan inhibisi yang sangat rendah dibawah 0%. Menurut penelitian Akmalia et al, natrium diklofenak konsentrasi 100 µg/mL memiliki nilai inhibisi yang baik sebesar 76.08% terhadap hemolisis yang dapat menyebabkan inflamasi. Pada penelitian Kumia et al. yang dilakukan pada human red blood cells (HRBC), natrium diklofenak konsentrasi 20 ppm memiliki nilai inhibisi 26.685% sedangkan pada konsentrasi 100 ppm nilai inhibisinya mencapai 71.268%. Hal ini menunjukkan konsentrasi rendah natrium diklofenak kurang efektif dalam menghambat keadaan inflamasi dibandingkan dengan konsentrasi tinggi natrium diklofenak.

19

KESIMPULAN DAN SARAN

Hasil dari penelitian ini dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol 70% *C. xanthorrhiza* Roxb. pada rentang konsentrasi 50; 25; 12.5; 6.25; 3.125 µg/mL tidak toksik karena memiliki nilai viabilitas diatas 80% sedangkan pada rentang konsentrasi 200; 100 µg/mL toksik terhadap sel RAW 264.7 yang diinduksi LPS karena memiliki nilai viabilitas dibawah 80%. Perlakuan ekstrak *C. xanthorrhiza* dapat meningkatkan viabilitas dan menurunkan inhibisi sel RAW 264.7 yang diinduksi LPS berdasarkan penurunan konsentrasi. Selain itu, dosis natrium diklofenak 6.25; 3.125 µg/mL sebagai pembandingnya menunjukkan persen viabilitas yang tinggi dengan nilai viabilitas diatas 100%.

Dibutuhkan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui senyawa atau mediator inflamasi yang berhasil dihambat oleh ekstrak etanol 70% *C. xanthorrhiza* Roxb. untuk pengembangan obat antiinflamasi berbahan dasar alam.

DAFTAR PUSTAKA

- Neldawati, Ratnawulan, Gusnedi. Analisis nilai absorbansi dalam penentuan kadar flavonoid untuk berbagai jenis daun tanaman obat. *Pillar Phys.* 2013 Oktober; 2: 76.
- Ngadino, Setiawan, Koerniasari, Emawati, Sudjarwo SA. Evaluation of antimycobacterial activity of *Curcuma xanthorrhiza* ethanolic extract against *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv in vitro. *Vet World.* 2018 March; 11 (3): 368.
- Lestari P. Studi tanaman khas Sumatera utara yang berkhasiat obat. *J Farmanesia.* 2016 November; 3 (1): 11.
- Sarira A, Tambing Y, Lasmini SA. Aplikasi komposisi media tanam dan pupuk kandang pada pertumbuhan dan hasil tanaman temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.). *Agrotekhis E-J Ilmu Pertanian.* 2020 Juni; 8 (3): 659.
- Isjwara FRG, Hasanah SN, Utami S, Suniarti DF. Tooth enamel surface micro-hardness with dual species *Streptococcus* biofilm after exposure to Java turmeric (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.) extract. *J Phys Conf Ser.* Agustus 2017 July; 884 (1): 1.
- Sari Putri RM. Si "kuning" temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.) dengan "segudang" khasiat. *J Teknol Pertanian.* 2013 November; 2 (2): 43.
- Rohman A, Wijayanti T, Windarsih A, Riyanto S. The authentication of java turmeric (*Curcuma xanthorrhiza*) using thin layer chromatography and 1H-NMR based-metabolite fingerprinting coupled with multivariate analysis. *Molecules.* 2020 August; 25 (17): 3928.
- Dermauwanti DE. Potential extract curcuma (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb) as antibacterials. *Fac Med Univeristy Lampung.* 2015 Januari; 4 (1): 6.
- Hikariastri P, Winarno H, Kusmardi K, Laksmitawati DR, Abdillah S. Aktivitas antiinflamasi crude extract fukoidan dari *Sargassum crassifolium* pada sel RAW 264.7 yang diinduksi LPS. *J Kefarmasian Indones.* 2019 Agustus; 9 (2): 98.
- Li N, Li W. Cytotoxicity and anti-inflammatory activity of tamarillo (*Solanum betaceum* Cav.) peel extract in lipopolysaccharide stimulated RAW 264.7 cells. *E-Gigi.* 2021 Juni; 9 (1): 93.
- Li W, Li N. Uji Sitotoksik dan Anti-Inflamasi Ekstrak Buah Bengkuang (*Pachyrhizus erosus* (L.) Urb.) terhadap Sel RAW 264.7 yang Distimulasi Lipopolisakarida. *eBiomedik.* 2020 Juni; 8 (2): 9.
- Patil KR, Mahajan UB, Unger BS, Goyal SN, Belemkar S, Surana SJ, dkk. Animal models of inflammation for screening of anti-inflammatory drugs: implications for the discovery and development of phytopharmaceuticals. *Int J Mol Sci.* 2019 September; 20 (18): 4367.
- Laksmitawati DR, Prasanti AP, Larasinta N, Syauta GA, Hilda R, Ramadanati HU, dkk. Anti-inflammatory potential of gandarusa (*Gendarussa vulgaris* Nees) and soursoup (*Annona muricata* L) extracts in LPS stimulated-macrophage cell (RAW264.7). *J Nat Remedies.* 2016 April; 16 (2): 1.
- Sujono TA, Kusumowati ITD, Munawaroh R. Aktivitas imunomodulator ekstrak metanolik dan fraksi buah talok (*Muntingia calabura* L.) pada sel RAW 264.7. *JPSCR J Pharm Sci Clin Res.* 2021 Juli; 6 (2): 82.
- Widowati W, Prahastuti S, Ekayanti NLW, Munshy UZ, Kusuma HSW, Wibowo SHB, dkk. Anti-inflammation assay of black soybean extract and its compounds on Lipopolysaccharide-induced RAW 264.7 cell. *J Phys Conf Ser.* 2019 November; 1374 (1): 51.
- Faris M. Potensi imunodulator ekstrak cengkeh pada kadar limfosit dan makrofag sebagai mekanisme pertahanan tubuh. *Khazanah J Mhs.* 2020 Desember; 12 (1): 37.
- Sari ER, Nova A, Sahitri L. Skrining senyawa sitotoksik dari ekstrak daun, bunga, buah, batang, dan akar pada tumbuhan senduduk (*Melasma malabathricum* L) terhadap larva *Artemia salina* Leach dengan metode brine shrimp lethality bioassay. *Scientia.* 2016 Februari; 6 (1): 66.
- Rohmah J, Rini CS, Wulandari FE. Uji aktivitas sitotoksik ekstrak selada merah (*Lactuca sativa* var. *Crispa*) pada berbagai pelarut ekstraksi dengan metode BSLT (brine shrimp lethality test). 2019 Juni; 4 (1): 26.
- Novalinda DC. Efektifitas Ekstrak Daun Sirih Merah dan Eugenol Terhadap Sel HepG2. Unpri Press; 2020.
- Wang Y, Nguyen DT, Yang G, Anesi J, Chai Z, Charchar F, dkk. An improved 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-5-(3-carboxymethoxyphenyl)-2-(4-sulfophenyl)-2H-tetrazolium proliferation assay to overcome the interference of hydralazine. *ASSAY Drug Dev Technol.* 2020 December; 18 (8): 2.
- Amelinda E, Widarta IWR, Darmayanti LPT. Pengaruh waktu maserasi terhadap aktivitas antioksidan ekstrak rimpang temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.). *J Ilmu Dan Teknol Pangan.* 2018 Desember; 7 (4): 166.
- Shafira ASN, Metusalach, Amir N. Inhibitory activity of distilled water and ethanol extracts of *Moringa oleifera* leaves against enterobacter aerogenes. *Int J Environ Agric Biotechnol.* 2021 Januari; 6 (1): 98.
- Suwardi OA. Perbedaan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Rimpang Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.) dan Asam Askorbat (Dengan Metode DPPH, ABTS, dan NO) [skripsi S1]. Jakarta: Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Trisakti; 2022.
- Purnamasari IW, Astuti P, Ermawati T. Viability of neutrophil incubated temulawak (*Curcuma xanthorrhiza*) rhizome extract and exposed by streptococcus mutans. *J Dentomaxillofacial Sci.* 2014 November; 6.
- Ranggaini MD. Ekstrak *Curcuma xanthorrhiza* Roxb. Menginduksi Apoptosis Pada Sel Kanker Nasofaring: Penelusuran Aktivasi B cell lymphoma 2 homology 3-interacting domain death agonist (Bid) Pada cell line HONE-1 [tesis S2]. Jakarta: Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Trisakti; 2018.
- Hikmawanti NPE, Fatmawati S, Asri AW. The effect of ethanol concentrations as the extraction solvent on

- antioxidant activity of Katuk (*Sauropus androgynus* (L.) Merr.) leaves extracts. IOP Conf Ser Earth Environ Sci. 2021 April; 755 (1): 4.
27. Marliani L, Sukmawati IK, Juanda D, Anjani E, Anggraeni I. Penapisan fitokimia, kadar kurkuminoid dan aktivitas antibakteri temu hitam (*Curcuma aeruginosa* (Christm) Roscoe.), temu putih (*Curcuma zedoaria* Roxb.) dan temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.). Herb-Med J. 2021 Januari; 4 (1): 61.
 28. Truong DH, Nguyen DH, Ta NTA, Bui AV, Do TH, Nguyen HC. Evaluation of the use of different solvents for phytochemical constituents, antioxidants, and in vitro anti-inflammatory activities of *severinia buxifolia*. J Food Qual. 2019 February; 2019: 2.
 29. Sonsoles H, González-Cofrade L, Cuadrado I, de las Heras B. Current status of terpenoids as inflammasome inhibitors. Biochem Pharmacol. 2019 November; 172: 2.
 30. Wiranto E, Wibowo MA, Ardiningsih P. Aktivitas antiinflamasi secara in-vitro ekstrak teripang butoh keling (*Holothuria leucospilota* Brandt) dari pulau Lemukutan. JKK. 2016 Januari; 5 (1): 55.
 31. Casciaro B, Calcaterra A, Cappiello F, Mori M, Loffredo M, Ghirga F, dkk. Nigritanine as a new potential antimicrobial alkaloid for the treatment of *Staphylococcus aureus*-induced infections. Toxins. 2019 September; 11 (9): 511.
 32. Haryoto, Muhtadi, Indrayudha P, Azizah T, Andi S. Aktivitas sitotoksik ekstrak etanol tumbuhan sala (*Cynometra ramiflora* Linn) terhadap sel HeLa, T47D, dan WiDR. J Penelit Sainstek. 2013 Oktober; 18 (2): 23.
 33. Salleh NM, Ismail S, Ab Halim M. Effects of *Curcuma xanthorrhiza* extracts and their constituents on phase ii drug-metabolizing enzymes activity. Pharmacogn Res. 2016 December; 8 (4): 309.
 34. Widodo H, Sisindari, Asmara W, Rohman A. Antioxidant activity, total phenolic and flavonoid contents of selected medicinal plants used for liver diseases and its classification with chemometrics. J Appl Pharm Sci. 2019 June; 9 (6): 99–105.
 35. Yanuarti R, Nurjanah N, Anwar E, Hidayat T. Profile of phenolic and antioxidants activity from seaweed extract *Turbinaria conoides* and *Eucheuma cottonii*. J Pengolah Has Perikan Indones. 2017 May; 20 (2): 230.
 36. Widyastuti I, Luthfah HZ, Hartono YI, Islamadina R, Can AT, Rohman A. Antioxidant activity of temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.) and its classification with chemometrics. Indones J Chemom Pharm Anal. 2021 Februari; 29.
 37. Armadany FI, Wahyuni W, Ardianti M, Mallarangeng ANTA. Uji potensi antiinflamasi ekstrak etanol daun bambu-bambu (*Polygonum pulchrum* Blume) dengan metode stabilisasi membran sel darah merah secara in vitro. Maj Famasetika. 2020 Desember; 4 (1): 148.
 38. Setiawan PYB, Kertia N, Nurrochmad A, Wahyuono S. Synergistic anti-inflammatory effects of *Curcuma xanthorrhiza* rhizomes and *Physalis angulata* herb extract on lipopolysaccharide-stimulated RAW 264.7 cells. J Appl Pharm Sci. 2022 July; 12 (7): 91–7.
 39. Park J, Km HD, Lee SH, Kwak CH, Chang YC, Lee YC, dkk. Ascochlorin induces caspase-independent necroptosis in LPS-stimulated RAW 264.7 macrophages. J Ethnopharmacol. 2019 April; 239: 111898.
 40. Akmalia RA Hajrah, Rijai L. Aktivitas antinflamasi ekstrak rimpang temu unci (*Boesenbergia pandurata*) secara in-vitro. Dalam: Proceeding of the 4th Mulawarman Pharmaceuticals Conferences; 2016 21-22 Oktober; Samarinda: Kalimantan Timur; 2016. P. 289-94.
 41. Kurnia D, Prisdayanti N, Marlioni L, Idar, Nurochman Z. Antiinflammatry activity from marine microalgae *Chlorella vulgaris* extract using human red blood cells (HRBC) stability method. J Kartika Kim. 2019 November; 2 (2): 61.

Efek sitotoksisitas ekstrak etanol 70% curcuma xanthorrhiza roxb. Terhadap sel raw 264.7 yang diinduksi lipopolisakarida (lps)

ORIGINALITY REPORT

20%

SIMILARITY INDEX

16%

INTERNET SOURCES

10%

PUBLICATIONS

3%

STUDENT PAPERS

PRIMARY SOURCES

1	adoc.pub Internet Source	1%
2	Andrew - Johan, Regina Oktavia, Lusiana Batubara, Dwi Ngestiningsih, Innawati Jusup. "PENGARUH EKSTRAK ASHITABA TERHADAP KADAR SERUM GLUTAMIC OXALOACETIC TRANSAMINASE DAN SERUM GLUTAMIC PYRUVIC TRANSAMINASE PADA TIKUS DENGAN LUKA BAKAR", JOMIS (Journal of Midwifery Science), 2021 Publication	1%
3	www.karyailmiah.trisakti.ac.id Internet Source	1%
4	dspace.uii.ac.id Internet Source	1%
5	www.researchgate.net Internet Source	1%

6	Indra Fransiskus Xaverius Rompas, Orlendy Gasah. "EFEKTIFITAS EKSTRAK RUMPUT LAUT HIJAU (ULVA LACTUCA) TERHADAP AKTIVITAS ANTIOKSIDAN SEBAGAI SUMBER PANGAN BERKELANJUTAN", <i>BIO-EDU: Jurnal Pendidikan Biologi</i> , 2022 Publication	1 %
7	repository.uinjkt.ac.id Internet Source	1 %
8	idoc.pub Internet Source	1 %
9	id.intermediapub.com Internet Source	1 %
10	www.scribd.com Internet Source	1 %
11	Bruno Matheus Facchin, Gustavo Oliveira dos Reis, Guilherme Nicácio Vieira, Eduarda Talita Bramorski Mohr et al. "Inflammatory biomarkers on an LPS-induced RAW 264.7 cell model: a systematic review and meta-analysis", <i>Inflammation Research</i> , 2022 Publication	<1 %
12	123dok.com Internet Source	<1 %
13	Submitted to Universitas Brawijaya Student Paper	<1 %

14	www.frontiersin.org Internet Source	<1 %
15	Submitted to Fakultas Ekonomi dan Bisnis Universitas Gadjah Mada Student Paper	<1 %
16	Submitted to Padjadjaran University Student Paper	<1 %
17	arteri.sinergis.org Internet Source	<1 %
18	link.springer.com Internet Source	<1 %
19	publikasiilmiah.unwahas.ac.id Internet Source	<1 %
20	repository.usu.ac.id Internet Source	<1 %
21	eprints.ulm.ac.id Internet Source	<1 %
22	www.cheric.org Internet Source	<1 %
23	Harto Widodo, Abdul Rohman. "Ethyl acetate crude fraction of Macaranga subpeltata and silymarin increase Vero cell survival and HepG2 cell death due to oxidative stress", Journal of Applied Pharmaceutical Science, 2023	<1 %

24	etheses.uin-malang.ac.id Internet Source	<1 %
25	repository.unair.ac.id Internet Source	<1 %
26	text-id.123dok.com Internet Source	<1 %
27	Zalinar Udin. "SITOTOKSISITAS XANTHORRHIZOL dari MINYAK ATSIRI RIMPANG Curcuma xanthorrhizaRoxb. terhadap SEL KANKER PAYUDARA YBM-1", Jurnal Kimia Terapan Indonesia, 2013 Publication	<1 %
28	docplayer.info Internet Source	<1 %
29	jurnal.umsb.ac.id Internet Source	<1 %
30	jurnal.unprimdn.ac.id Internet Source	<1 %
31	repository.unej.ac.id Internet Source	<1 %
32	riset.unisma.ac.id Internet Source	<1 %
33	smujo.id Internet Source	<1 %

34	www.digipat.net Internet Source	<1 %
35	www.honestdocs.id Internet Source	<1 %
36	www.kafekepo.com Internet Source	<1 %
37	www.kerjanya.net Internet Source	<1 %
38	www.koreascience.or.kr Internet Source	<1 %
39	anyflip.com Internet Source	<1 %
40	ejournal.medistra.ac.id Internet Source	<1 %
41	ejournal.unida.gontor.ac.id Internet Source	<1 %
42	garuda.kemdikbud.go.id Internet Source	<1 %
43	journal.unesa.ac.id Internet Source	<1 %
44	phcogj.com Internet Source	<1 %
45	ppjp.ulm.ac.id Internet Source	<1 %

46

repository.usu.ac.id

Internet Source

<1 %

47

repository.dinamika.ac.id

Internet Source

<1 %

48

repository.maranatha.edu

Internet Source

<1 %

49

www.neliti.com

Internet Source

<1 %

50

W Widowati, S Prahastuti, N L W Ekayanti, U Z Munshy, H S W Kusuma, S H B Wibowo, A Amalia, W S Widodo, R Rizal. "Anti-Inflammation Assay of Black Soybean Extract and Its Compounds on Lipopolysaccharide-Induced RAW 264.7 Cell", Journal of Physics: Conference Series, 2019

Publication

<1 %

51

Andi Nur Aisyah, Syamsu Nur, Endang Lukitaningsih, Rumiya Rumiya, Asril Burhan, Syafia Mustika Adjara, Kurnia Rahim. "Efek Sitotoksik Ekstrak dan Fraksi Umbi Paku Atai Merah (*Angiopteris ferox* Copel) Terhadap Sel Kanker Payudara T47D", Jurnal Farmasi Galenika (Galenika Journal of Pharmacy) (e-Journal), 2020

Publication

<1 %

52

Putu Yudhistira Budhi Setiawan, Nyoman Kertia, Arief Nurrochmad, Subagus

<1 %

Wahyuono. "Synergistic anti-inflammatory effects of Curcuma xanthorrhiza rhizomes and Physalis angulata herb extract on lipopolysaccharide-stimulated RAW 264.7 cells", Journal of Applied Pharmaceutical Science, 2022

Publication

53

ejournal.unesa.ac.id

Internet Source

<1 %

Exclude quotes On

Exclude matches Off

Exclude bibliography On

Efek sitotoksisitas ekstrak etanol 70% curcuma xanthorrhiza roxb. Terhadap sel raw 264.7 yang diinduksi lipopolisakarida (lps)

GRADEMARK REPORT

FINAL GRADE

/123

GENERAL COMMENTS

Instructor

PAGE 1

PAGE 2

PAGE 3

PAGE 4

PAGE 5

PAGE 6
