

**EFEK REBUSAN RIMPANG SEGAR, REBUSAN RIMPANG KERING,
MINYAK ATSIRI, DAN KURKUMIN *Curcuma xanthorrhiza* Roxb.
TERHADAP KADAR BILIRUBIN PADA TIKUS WISTAR JANTAN YANG
DIINDUKSI PARASETAMOL**

***Effect of Fresh Rhizome Decoction, Dried Rhizome Decoction, Essential Oils,
and Curcumin of *Curcuma xanthorrhiza* Roxb. on Bilirubin Level in
Paracetamol-induced Male Wistar Rats***

Fitriana Hayyu Arifah, Suwijiyu Pramono^{*}), Agung Endro Nugroho

Fakultas Farmasi Universitas Gadjah Mada, Sekip Utara, Yogyakarta, 55281, Indonesia.

Telp./ Fax: +62274-543120

*e-mail: suwijiyu_pramono@yahoo.com; suwijiyu_pramono@ugm.ac.id

ABSTRACT

*Javanese turmeric (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.) is a medicinal plant that can be developed for the jaundice treatment. The aim of this study was to evaluate the fresh rhizome decoction (FRD), dried rhizome decoction (DRD), essential oils, and curcumin of *Curcuma xanthorrhiza* Roxb. on bilirubin level in paracetamol-induced male Wistar rats. Male Wistar rats were divided into 10 groups, including group I and II were normal control and negative control, groups III, IV, and V received pretreatment of FRD 0.75 g/kgBW, 2.25 g/kgBW, and 6.75 g/kgBW, respectively for 9 days, Groups VI, VII, and VIII received pretreatment DRD 0.45 g/kgBW, 1.35 g/kgBW, and 4.05 g/kgBW, respectively for 9 days, group IX received pretreatment of essential oils 1.01 µl/kgBW for 9 days, group X received pretreatment of curcumin 75 µg/kgBW for 9 days. Groups II, III, IV, V, VI, VII, VIII, IX, and X on days 7, 8, and 9 were induced with paracetamol 3 g/kgBW. The blood was drained on day 0 and 4 after induction of paracetamol for bilirubin parameter. Data were analyzed statistically using One-Way ANOVA test followed by LSD test with a 95% confidence level. The results showed that pretreatment of FRD 0.75 g/kgBW decreased significantly the bilirubin level. DRD, essential oils, and curcumin did not decreased significantly the bilirubin level. Essential oils decreased the bilirubin level better than curcumin. It could be concluded that pretreatment of FRD 0.75 g/kgBW provided the optimum results in terms of decreasing the bilirubin level. FRD is potential to be developed as natural medicine to treat jaundice.*

Keywords: *Curcuma xanthorrhiza* Roxb., Decoction, Essential Oils, Curcumin, Bilirubin

ABSTRAK

Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.) merupakan tanaman obat yang dapat dikembangkan untuk pengobatan ikterus. Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi efek rebusan rimpang segar (RRS), rebusan rimpang kering (RRK), minyak atsiri, dan kurkumin *Curcuma xanthorrhiza* Roxb. terhadap kadar bilirubin pada tikus *Wistar* jantan yang diinduksi parasetamol. Tikus *Wistar* jantan dikelompokkan menjadi 10 kelompok, meliputi kelompok I dan II masing-masing kontrol normal dan kontrol negatif, kelompok III, IV, dan V yaitu praperlakuan RRS 0,75 g/kg BB, 2,25 g/kg BB, dan 6,75 g/kg BB, masing-masing selama 9 hari, kelompok VI, VII, dan VIII yaitu praperlakuan RRK 0,45 g/kg BB, 1,35 g/kg BB, dan 4,05 g/kg BB, masing-masing selama 9 hari, kelompok IX yaitu praperlakuan minyak atsiri 1,01 µl/kgBB selama 9 hari, dan kelompok X yaitu praperlakuan kurkumin 75 µg/kg BB selama 9 hari. Kelompok II, III, IV, V, VI, VII, VIII, IX, dan X pada hari ke-7, 8, dan 9 diinduksi parasetamol 3 g/kg BB. Darah diambil pada hari ke-0 dan 4 setelah induksi parasetamol kemudian diukur kadar bilirubin. Hasil yang diperoleh distatistik menggunakan uji *One-Way ANOVA* dilanjutkan uji LSD dengan taraf kepercayaan 95%. Hasil penelitian menunjukkan bahwa praperlakuan RRS 0,75 g/kg BB menurunkan kadar bilirubin secara bermakna. RRK, minyak atsiri, dan kurkumin tidak menurunkan kadar bilirubin secara bermakna. Minyak atsiri menunjukkan efek menurunkan kadar bilirubin lebih baik dibandingkan kurkumin. Hal ini dapat disimpulkan bahwa praperlakuan RRS

0,75 g/kg BB memberikan hasil optimum dalam menurunkan kadar bilirubin. RRS merupakan jenis ekstrak temulawak yang potensial untuk pengembangan produk untuk pengobatan ikterus.

Kata kunci: *Curcuma xanthorrhiza* Roxb., Rebusan, Minyak Atsiri, Kurkumin, Bilirubin.

PENDAHULUAN

Hepar merupakan organ terbesar pada tubuh manusia yang berperan vital dalam metabolisme karbohidrat, lipid, protein, dan detoksifikasi baik zat xenobiotik maupun obat. Hal ini menyebabkan hepar rentan terhadap paparan obat, toksikan lingkungan, dan xenobiotik lain (Kumar *et al.*, 2013). Kelainan fungsi hepar dapat dihubungkan dengan nekrosis seluler, peningkatan peroksidasi lipid, dan penurunan glutathione (Setty *et al.*, 2007).

Salah satu penyakit hepar yang dikenal masyarakat adalah penyakit kuning/ ikterus. Ikterus ditandai dengan perubahan warna menjadi kuning pada kulit, sklera, serta membran mukus yang berhubungan langsung dengan peningkatan kadar bilirubin. Ikterus terjadi karena ketidakseimbangan antara produksi dan *clearance* bilirubin (Novo & Weish, 2017). Salah satu obat yang memicu kelainan fungsi hepar adalah parasetamol (Setty *et al.*, 2007). Pemberian parasetamol mengakibatkan pembentukan intermediet reaktif yaitu N-asetil-P-benzoquinoneimin (NAPQI) dan penurunan glutathione secara drastis sehingga terbentuk ikatan kovalen NAPQI dengan kelompok sistein pada sel hepatosit yang akan dilepas menuju serum, salah satunya bilirubin (Davern *et al.*, 2006; Gowda *et al.*, 2009).

Ikterus ditandai dengan meningkatnya kadar bilirubin, sehingga hal ini akan mendorong eksplorasi pemanfaatan tanaman obat Indonesia. Salah satu tanaman obat yang berprospek untuk pengobatan ikterus adalah temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.). Secara empiris temulawak dimanfaatkan untuk mengatasi gangguan fungsi hepar dengan meminum rebusan rimpang temulawak segar sebanyak 25 gram setiap hari (Heyne, 1987). Temulawak juga digunakan sebagai etnomedisin dari Propinsi Lampung dan Sulawesi Selatan untuk meringankan kerusakan hepar (Badan Pengawas Obat dan Makanan RI, 2013).

Rimpang temulawak terstandar mengandung minyak atsiri tidak kurang dari 5.8% v/b dan kurkuminoid tidak kurang dari 4.0% b/b dihitung sebagai kurkumin (Departemen Kesehatan RI, 2008). Efek protektif terhadap gangguan fungsi hepar dari rimpang temulawak diperkirakan berasal dari kurkumin (Badan Pengawas Obat dan Makanan RI, 2013). Secara empiris, penggunaan rimpang temulawak untuk gangguan fungsi hepar adalah rebusan rimpang segar (Heyne, 1987), dimana rebusan segar hanya sedikit mengandung senyawa kurkuminoid dan dimungkinkan mengandung senyawa lain. Halim *et al.* (2012) melaporkan bahwa ekstrak air rimpang temulawak mengandung kamfer, ar-kurkumen, α -cedren, β -elemenon, dan xanthorrhizol, serta terpenoid, fenol, flavonoid, dan saponin.

Ada kemungkinan kandungan senyawa selain kurkumin dari rimpang temulawak yang berperan untuk mengatasi gangguan fungsi hepar. Penelitian ini bertujuan untuk penelusuran jenis ekstrak temulawak yang paling potensial untuk menurunkan kadar bilirubin pada tikus Wistar jantan yang diinduksi parasetamol dosis 3 g/kgBB. Adapun sampel yang diuji adalah rebusan rimpang segar, rebusan rimpang kering, minyak atsiri, dan kurkumin *Curcuma xanthorrhiza* Roxb. Penelitian ini diharapkan mampu memberikan kontribusi untuk pemilihan jenis ekstrak temulawak yang paling sesuai untuk pengembangan produk obat bahan alam untuk penyakit ikterus.

METODE

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Biologi Farmasi, Laboratorium Farmakologi dan Toksikologi, Fakultas Farmasi Universitas Gadjah Mada (UGM), dan Laboratorium Penelitian dan Pengujian Terpadu (LPPT) UGM. Pengajuan *ethical clearance* penelitian ditujukan kepada Komisi Etik Penelitian, LPPT UGM. Penelitian ini dilaksanakan pada bulan November 2016- Mei 2017.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini berupa rimpang temulawak diperoleh dari Desa Mangunan, Dlingo, Bantul pada bulan September 2016. Identifikasi sampel uji dilakukan di Departemen Biologi Farmasi, Fakultas Farmasi UGM. Isolat kurkumin dengan kemurnian 88,65% (Pramono *et al.*, 2018), akuades (General Labora), Na₂SO₄ anhidrat, CMC-Na (Daichi), parasetamol (PT. Konimex), pelet BR1 (PT. Japfa Comfeed), reagen kit bilirubin Dyasis® yang terdiri dari reagen 1 (asam sulfanat dan HCl), reagen 2 (natrium sitrat), reagen 3 (kafein, natrium benzoat, dan natrium asetat), dan reagen (larutan Feeling, kalium natrium tartrat, dan natrium hidroksida).

Hewan coba adalah tikus *Wistar* jantan umur 2-3 bulan dengan berat badan 150-300 g yang diperoleh dari Laboratorium Farmakologi dan Toksikologi, Fakultas Farmasi UGM. Hewan coba dikelompokkan dan ditempatkan dalam kandang penelitian dengan kondisi standar laboratorium pada temperatur 22±2°C, rerata kelembaban relatif 55±10%, dan intensitas cahaya dengan siklus terang-gelap. Hewan uji diberikan pakan standar (pelet BR1) dan air minum suling secara *ad libitum*.

Rimpang temulawak dipanen dari tanaman temulawak yang berumur 10 bulan. Tanaman temulawak yang berumur 10-12 bulan merupakan umur yang optimum untuk panen temulawak (Rahardjo, 2010). Rimpang temulawak segar sebanyak 6 kg direndam dalam bak pencucian selama 2-3 jam, selanjutnya rimpang dicuci dengan air bersih mengalir sambil disortasi. Rimpang diiris dengan irisan melintang setebal 4-6 mm (Departemen Kesehatan RI, 1979; Hayani, 2006). Sebagian rimpang temulawak dikeringkan menggunakan oven pada suhu 50°C selama 3-4 hari (Manalu *et al.*, 2012).

Rebusan rimpang segar dan rebusan rimpang kering diperoleh dari hasil ekstraksi menggunakan pelarut akuades dalam suhu 90°C dalam panci infusa sambil sesekali diaduk. Rebusan dipisahkan hingga konsentrasi 50% b/v. Bobot masing-masing simplisia baik rimpang segar dan rimpang kering adalah 100 g dalam akuades sebanyak 1 L serta volume penjujukan sebanyak 10% dari total volume akuades, direbus hingga volume 500 mL. Rebusan yang didapatkan kemudian disaring dengan kertas saring sehingga diperoleh larutan kuning kecoklatan dan ditampung dalam wadah yang tertutup rapat. Setiap hari dilakukan perebusan dengan jumlah dan metode yang sama untuk dipejalkan hewan uji (Heyne, 1987).

Minyak atsiri diperoleh dari rimpang segar sebanyak 6 kg dengan metode distilasi uap dan air. Proses distilasi dilakukan selama 5 jam yakni hingga tidak ada lagi minyak atsiri yang tersari keluar dari simplisia. Distilat ditampung sementara pada corong pisah, kemudian dilakukan pemisahan dengan air. Minyak atsiri disimpan dalam flakon, ditutup aluminium foil, dan diberi serbuk Na₂SO₄ anhidrat hingga menghilangkan sisa-sisa air dan mencegah ketengikan (Pramono *et al.*, 2015). Selanjutnya rendemen minyak atsiri dihitung terhadap bobotnya yang dinyatakan dengan satuan %v/b.

Penelitian ini menggunakan hewan uji yang berjumlah lima puluh ekor dibagi menjadi sepuluh kelompok yaitu kelompok I: kontrol normal, tikus normal diberi larutan CMC-Na 0,5% peroral, kelompok II: kontrol negatif, tikus hepatotoksik diberi larutan CMC-Na 0,5%, kelompok III, IV, dan V: kelompok praperlakuan rebusan rimpang segar masing-masing dosis 0,75 g/kgBB, 2,25 g/kgBB, dan 6,75 g/kgBB selama 9 hari, kelompok VI, VII, dan VIII: kelompok praperlakuan

rebusan rimpang kering masing-masing dosis 0,45 g/kgBB, 1,35 g/kgBB, dan 4,05 g/kgBB selama 9 hari, kelompok IX: kelompok praperlakuan minyak atsiri dosis 1,01 μ L/kgBB selama 9 hari, dan kelompok X: kelompok praperlakuan kurkumin dosis 75 μ g/kgBB. Kelompok II, III, IV, V, VI, VII, VIII, IX, dan X pada hari ke-7, 8, dan 9 diinduksi parasetamol 3 g/kgBB. Tikus dipuaskan 8-10 jam sebelum diambil darahnya dari *sinus orbitalis* sebanyak 2 mL. Darah diambil pada hari ke-0 dan 4 setelah induksi parasetamol kemudian diukur kadar bilirubin. Darah disentrifugasi dengan kecepatan 4.000 rpm selama 10 menit sehingga didapatkan serum.

Kadar bilirubin ditentukan dengan metode Jendrassik-Grof. Serum sebanyak 100 μ L ditambah dengan reagen 1 sebanyak 100 μ L, reagen 2 sebanyak 25 μ L, dan reagen 3 sebanyak 500 μ L kemudian divortek dan diinkubasi pada suhu kamar 10-60 menit. Reagen 4 sebanyak 100 μ L ditambahkan kemudian diinkubasi pada suhu kamar selama 5-25 menit. Larutan diukur dengan spektrofotometer *microlab* 300 pada panjang gelombang 578 nm dan dicatat absorbansinya. Kadar bilirubin (dalam satuan mg/dL) didapat dengan memasukkan nilai absorbansi ke dalam rumus perhitungan:

kadar bilirubin = Δ Abs sampel x 10,5 mg/dl (LPPT UGM, 2016)

Data dianalisis menggunakan program SPSS (*for windows*) versi 18.00. Data diuji normalitas dengan *Shapiro-Wilk* dan uji homogenitas dengan *levene test*. Jika data terdistribusi normal dan homogen maka dianalisis dengan uji *One-Way ANOVA* dilanjutkan uji *post hoc* LSD. Jika data terdistribusi tidak normal dan atau tidak homogen maka dianalisis dengan uji *Kruskal-Wallis* dilanjutkan uji *Mann-Whitney*. Taraf kepercayaan masing-masing uji sebesar 95%. Kadar bilirubin dihitung untuk mendapatkan daya proteksi menggunakan rumus perhitungan:

$$\left(\frac{\text{kadar rerata kelompok parasetamol} - \text{kadar sampel uji}}{\text{kadar rerata kelompok parasetamol} - \text{kadar rerata kontrol normal}} \right) \times 100$$
 (Rao *et al.*, 2012).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Identifikasi sampel uji dilakukan oleh botanis dari Departemen Biologi Farmasi, Fakultas Farmasi UGM dengan nomor FA/4164/M/03/02. Hasil menunjukkan bahwa sampel uji yang digunakan merupakan memang benar temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.).

Pada penelitian ini dibuat dua jenis rebusan yaitu rebusan rimpang segar (RRS) dan rebusan rimpang kering (RRK). RRS didapatkan dari simplisia rimpang segar, sedangkan RRK didapatkan dari simplisia rimpang temulawak yang telah dikeringkan. Metode pengeringan menggunakan oven suhu 50°C merupakan suhu optimum untuk mendapatkan simplisia kering temulawak dengan kadar air yang rendah (Manalu *et al.*, 2012). Hasil rendemen pengeringan temulawak dari penelitian ini adalah 14,18% b/b. Hasil pemeriksaan organoleptik menunjukkan bahwa RRS berwarna coklat muda, berbau khas aromatik temulawak, dan rasa agak pahit. RRK berwarna coklat tua, berbau khas aromatik temulawak, dan rasa pahit. Rebusan dibuat baru setiap akan dipejankan ke hewan uji.

Rimpang temulawak segar sebanyak 6 kg dilakukan perajangan dengan arah irisan melintang agar sel-sel yang mengandung minyak atsiri tidak pecah. Minyak atsiri diperoleh dengan distilasi uap dan air. Metode ini dipilih karena simplisia tidak kontak langsung dengan air sehingga meminimalisir terjadinya hidrolisis komponen minyak atsiri (Guenther, 1948). Rimpang segar temulawak yang didistilasi selalu terbasahi karena kontak bahan dengan uap air yang berlangsung secara terus-menerus sehingga minyak atsiri dalam sel dapat berdifusi keluar dan teruapkan. Dekomposisi senyawa yang ada dalam minyak atsiri juga dapat dihindari karena suhu pada distilasi uap dan air tidak terlalu tinggi (Guenther, 1948). Volume minyak atsiri yang dihasilkan sebesar 3,44 mL dengan perhitungan rendemen sebesar 1,72 % v/b. Minyak atsiri berwarna kuning kecoklatan, berbau khas, dan rasa agak pahit.

Sebelum dilakukan penelitian menggunakan hewan uji, metode penelitian telah disetujui yang dibuktikan dengan surat keterangan kelaikan etik dari Komisi *Ethical Clearance*, LPPT UGM dengan No. 02.02/04/UN1/LPPT/II/2017. Penentuan dosis pada masing-masing kelompok hewan uji berdasarkan penggunaan dosis empiris RRS untuk gangguan fungsi hepar yaitu 25 g/kgBB (Heyne, 1987), kemudian dilakukan konversi dosis ke tikus yaitu 2,25 g/kgBB. Pada perlakuan RRS terdapat tiga peringkat dosis yaitu 1/3 kali dosis terapi (0,75 g/kgBB), dosis terapi (2,25 g/kgBB), dan 3 kali dosis terapi (6,75 g/kgBB). Dosis RRR didapatkan dari ekivalensi bobot rendemen selama proses pengeringan yang terdapat penyusutan sebesar ~20%, sehingga didapatkan dosis terapi yaitu 0.45 g/kgBB. Pada perlakuan RRR terdapat tiga peringkat dosis yaitu dosis terapi (0,45 g/kgBB), 3 kali dosis terapi (1,35 g/kgBB), dan 9 kali dosis terapi (4,05 g/kgBB).

Metode induksi peningkatan kadar bilirubin pada penelitian ini menggunakan parasetamol dosis 3 g/kgBB selama 3 hari pada hari ke-7, 8, dan 9. Pemberian parasetamol overdosis akan mengakibatkan peningkatan pembentukan intermediat reaktif (NAPQI) dan penurunan glutathion secara drastis (Davern *et al.*, 2006). NAPQI akan membentuk ikatan kovalen dengan kelompok sistein pada sel hepatosit sehingga terjadi ikatan parasetamol-protein yang dilepaskan menuju serum (Davern *et al.*, 2006) dan ditandai dengan kenaikan kadar bilirubin (Setty *et al.*, 2007).

Pada penelitian ini, pengukuran kadar bilirubin dilakukan di LPPT UGM yang dinyatakan dalam satuan mg/dL. Hasil pengujian terhadap penurunan kadar bilirubin dari masing-masing kelompok yang diberikan sediaan uji selanjutnya dianalisis secara statistik. Pengujian statistik tersebut dilakukan pada hari ke-0/ *baseline* (sebelum diberikan senyawa uji) untuk mengetahui kondisi awal hewan uji sebelum penelitian dan hari ke-4 setelah induksi parasetamol dengan pemberian sampel uji selama 9 hari (terminasi) untuk mengetahui efek terhadap kerusakan hepar. Uji normalitas data dengan *Shapiro-Wilk* dan homogenitas dengan uji *levene test* menunjukkan bahwa distribusi data kadar bilirubin normal dan homogen. Uji statistik yang dipilih untuk mengetahui perbedaan antar kelompok adalah *One-Way ANOVA* dilanjutkan *post hoc LSD*.

Tabel 1. Kadar bilirubin (mg/dL) sampel uji

Kelompok	Rerata bilirubin <i>baseline</i> ± SEM	Rerata bilirubin terminasi ± SEM
KN	0.42 ± 0.06	0.35 ± 0.09
PCT	0.33 ± 0.03	0.61 ± 0.10#
PCT-RRS 1	0.31 ± 0.05	0.35 ± 0.11*
PCT-RRS 2	0.25 ± 0.04	0.47 ± 0.11
PCT-RRS 3	0.33 ± 0.07	0.39 ± 0.06
PCT-RRK 1	0.45 ± 0.04	0.62 ± 0.06
PCT-RRK 2	0.42 ± 0.05	0.46 ± 0.07
PCT-RRK 3	0.39 ± 0.02	0.54 ± 0.08
PCT-M	0.40 ± 0.05	0.49 ± 0.10
PCT-Kur	0.41 ± 0.04	0.51 ± 0.10

Keterangan:

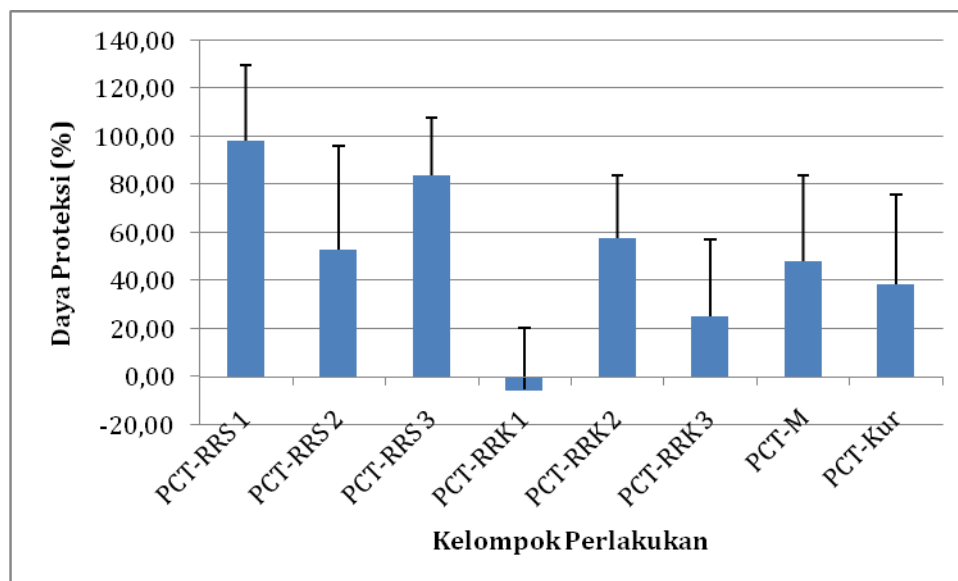
KN: kontrol normal; PCT: parasetamol; PCT-RRS 1: parasetamol, rebusan rimpang segar 0.75 g/kgBB; PCT-RRS 2: parasetamol, rebusan rimpang segar 2.25 g/kgBB; PCT-RRS 3: parasetamol, rebusan rimpang segar 6.75 g/kgBB; PCT-RRK 1: parasetamol, rebusan rimpang kering 0.45 g/kgBB; PCT-RRK 2: parasetamol, rebusan rimpang kering 1.35 g/kgBB; PCT-RRK 3: parasetamol, rebusan rimpang kering 4.05 g/kgBB; PCT-M: parasetamol, minyak atsiri 1.01 µL/kgBB; PCT-Kur: parasetamol, kurkumin 75 µg/kgBB. (#) berbeda bermakna terhadap kontrol normal dan (*) berbeda bermakna terhadap kelompok PCT (p<0.05), rerata±SEM, n=5. *Baseline* adalah kondisi sebelum diberikan

perlakuan sampel uji. Terminasi adalah kondisi setelah diberikan perlakuan sampel uji selama 9 hari dan parasetamol dosis 3 g/kgBB pada hari ke-7, 8, dan 9.

Hasil analisis kadar bilirubin *baseline* menunjukkan nilai $p > 0,05$ yang artinya tidak ada perbedaan bermakna pada kadar bilirubin antar kelompok perlakuan. Hasil ini menunjukkan tingkat keseragaman kadar bilirubin pada setiap individu hewan uji pada penelitian ini sebelum dilakukan perlakuan. Pada penelitian ini kadar bilirubin dalam rentang 0,13-0,60 mg/dL. Penetapan kadar bilirubin pada tikus normal yang dilaporkan oleh Zucker *et al.* (2001) adalah $0,72 \pm 0,29$ mg/dL (*range* 0,3-1,3 mg/dL). Perbedaan hasil analisis tersebut disebabkan beberapa faktor antara lain umur, jenis kelamin, strain, jenis substrat yang digunakan, pH reaksi, dan temperatur inkubasi rekasi (Fox *et al.*, 2007).

Hasil analisis kadar bilirubin terminasi menunjukkan nilai $p < 0,05$ pada kelompok normal dan kelompok induksi parasetamol (kelompok PCT). Hal ini membuktikan bahwa induksi parasetamol dosis 3 g/kgBB mampu meningkatkan kadar bilirubin secara signifikan dengan kenaikan 1,74 kali dari kelompok normal (tabel 1.). Hasil analisis statistik kadar bilirubin dengan membandingkan kelompok PCT dengan kelompok sampel uji menunjukkan penurunan signifikan $p < 0,05$ yaitu RRS dosis 0,75 g/kg BB.

Untuk membandingkan efek menurunkan kadar bilirubin antar sampel uji maka dihitung daya proteksi dari masing-masing kelompok perlakuan dengan menggunakan acuan Rao *et al.* (2012). Data hasil perhitungan daya proteksi dari masing-masing sampel uji dapat dilihat pada gambar 1.



Gambar 1. Daya proteksi (%) kadar bilirubin

Keterangan:

PCT-RRS 1: parasetamol, rebusan rimpang segar 0.75 g/kgBB; PCT-RRS 2: parasetamol, rebusan rimpang segar 2.25 g/kgBB; PCT-RRS 3: parasetamol, rebusan rimpang segar 6.75 g/kgBB; PCT-RRK 1: parasetamol, rebusan rimpang kering 0.45 g/kgBB; PCT-RRK 2: parasetamol, rebusan rimpang kering 1.35 g/kgBB; PCT-RRK 3: parasetamol, rebusan rimpang kering 4.05 g/kgBB; PCT-M: parasetamol, minyak atsiri 1.01 µL/kgBB; PCT-Kur: parasetamol, kurkumin 75 µg/kgBB. (#) berbeda bermakna terhadap kontrol normal dan (*) berbeda bermakna terhadap kelompok PCT ($p < 0,05$), rerata \pm SEM, n=5.

Praperlakuan RRS dosis 0,75 g/kgBB, 2,25 g/kgBB, dan 6,75 g/kgBB masing-masing mempunyai daya proteksi sebesar 98,46%, 53,08%, dan 83,85%. Dosis efektif dari sediaan RRS adalah 0,75 g/kgBB. Praperlakuan RRK dosis 0,45 g/kgBB, 1,35 g/kgBB, dan 4,05 g/kgBB masing-masing mempunyai daya proteksi sebesar -5,38%, 57,69%, dan 25,38%. Dosis efektif dari sediaan RRK adalah 1,35 g/kgBB. Praperlakuan RRS dan RRK tidak menunjukkan hubungan antara dosis dan respon. Hubungan farmakodinamik antara dosis dan respon disebabkan oleh

ikatan reseptor dan sensitivitas, efek post-reseptor, dan interaksi kimia. Jika terjadi perbedaan (tidak adanya hubungan dosis dan respon) disebabkan kemampuan suatu gangguan untuk mengubah ikatan reseptor, perubahan level ikatan protein, atau berkurangnya sensitivitas reseptor (Badal & Delgoda, 2017). Praperlakuan minyak atsiri dosis 1.01 $\mu\text{L}/\text{kg}$ BB dan kurkumin dosis 75 $\mu\text{g}/\text{kg}$ BB masing-masing mempunyai daya proteksi sebesar 48.43% dan 38,46%.

Praperlakuan RRS mempunyai efek yang lebih baik dibanding RRK. Perbedaan efek dimungkinkan karena adanya perbedaan profil fitokimia. Proses penggunaan tanaman obat dimulai dari tahap pre-ekstraksi dan prosedur ekstraksi, dimana hal ini penting untuk mendapatkan komponen bioaktif tanaman (Azwanida, 2015). Bahan segar memiliki kandungan senyawa aktif yang berbeda dengan bahan kering, perbedaan ini dapat memiliki arti dalam perbedaan senyawa maupun hanya perbedaan kadar saja (Pramono, 2006). Penelitian Vongsak *et al.* (2013) membuktikan bahwa simplisia basah dan kering mempunyai perbedaan kadar dalam komponen bioaktif tertentu. Jika ekstrak diproduksi dengan proses yang berbeda maka memiliki efek terapi yang berbeda pula (Pramono, 2006).

Praperlakuan minyak atsiri dosis 1,01 $\mu\text{L}/\text{kgBB}$ dan kurkumin dosis 75 $\mu\text{g}/\text{kgBB}$ masing-masing mampu menurunkan kadar bilirubin namun tidak signifikan secara statistika. Minyak atsiri rimpang temulawak mempunyai efek yang lebih baik dibanding kurkumin dapat menurunkan kadar bilirubin dengan daya proteksi sebesar 48,43%, sedangkan kurkumin sebesar 38,46%.

Minyak atsiri merupakan komponen major pada rimpang temulawak yang belum pernah dilakukan penelitian untuk menurunkan kadar bilirubin. Pada penelitian ini, efek menurunkan kadar bilirubin dari minyak atsiri lebih baik dibandingkan kurkumin. Minyak atsiri rimpang temulawak mengandung komponen utama xanthorrhizol (Jantan *et al.*, 2012). Penelitian ini memiliki korelasi yang sama dengan penelitian Kim *et al.* (2004) melaporkan bahwa xanthorrhizol memiliki efek protektif pada kerusakan hepar yang lebih baik dibanding kurkumin pada dosis yang sama akibat induksi cisplatin dosis 45 mg/kgBB . Mekanisme xanthorrhizol dengan meregulasi aktivitas faktor transkripsi pada ikatan *Deoxyribose-Nucleic Acid* (DNA), *Nuclear Factor κB* (NF- κB), dan *Activator Protein 1* (AP 1) (Kim *et al.*, 2004).

Kurkumin merupakan senyawa yang sebelumnya dikenal paling bertanggungjawab untuk mengatasi kerusakan hepar. Kurkumin memiliki efek proteksi hepar dengan menghambat peroksidasi lipid, stres oksidatif dengan meningkatkan rasio *B-cell lymphoma 2/Bcl-2 associated X* (Bcl-2/Bax), dan reduksi apoptosis sel hepatosit. Kurkumin mampu menurunkan ekspresi Bax dari *messenger Ribonucleid Acid* (mRNA) dan meningkatkan ekspresi Bcl-2 dari mRNA pada tikus yang diinduksi parasetamol. Mekanisme kurkumin sebagai antiapoptosis masih belum jelas, tetapi mekanisme yang mungkin terjadi adalah penghambatan *Transforming Growth Factor- β* (TGF- β) sebagai aktivator caspase-3 pada jalur apoptosis (Li *et al.*, 2013).

Kandungan minyak atsiri dan kurkumin pada RRS dosis 2.25 g/kgBB ekuivalen dengan minyak atsiri dosis 1,01 $\mu\text{L}/\text{kgBB}$ dan kurkumin dosis 75 $\mu\text{g}/\text{kgBB}$. Efek praperlakuan RRS dosis 2.25 g/kgBB mempunyai daya proteksi yang lebih baik dibanding minyak atsiri dosis 1,01 $\mu\text{L}/\text{kgBB}$ dan kurkumin dosis 75 $\mu\text{g}/\text{kgBB}$. RRS temulawak tidak hanya mengandung minyak atsiri dsan kurkuminoid saja, tetapi juga mengandung senyawa lain. Penelitian Halim *et al.* (2012), ekstrak air temulawak mengandung flavonoid, fenol, dan terpenoid. Hal ini mengindikasikan adanya efek sinergisitas antar komponen yang ada pada rebusan rimpang segar. Satu tanaman mengandung beberapa senyawa aktif, dimana antar senyawa tersebut memiliki peran dalam efek farmakologi (Bone & Mills, 2013). Dalam kaitannya dengan obat

alam, satu tanaman mengandung beberapa senyawa aktif yang saling mendukung atau sinergisme, tetapi bukan potensiasi (Pramono, 2006).

KESIMPULAN

Rebusan rimpang segar (RRS) merupakan jenis ekstrak temulawak yang mempunyai efek optimum dalam menurunkan kadar bilirubin secara bermakna pada tikus hepatotoksik yang diinduksi parasetamol dosis 3 g/kgBB dengan dosis 0,75 g/kg BB. Penelitian ini tidak menunjukkan hubungan dosis dan respon biologi. Rebusan rimpang kering (RRK), minyak atsiri, dan kurkumin temulawak tidak menurunkan kadar bilirubin secara bermakna. Minyak atsiri memberikan efek menurunkan kadar bilirubin lebih baik dibandingkan kurkumin. Hal ini dapat disimpulkan bahwa praperlakuan RRS temulawak dosis 0,75 g/kg BB memberikan hasil optimum dalam menurunkan kadar bilirubin. RRS merupakan jenis ekstrak temulawak yang potensial untuk pengembangan produk untuk pengobatan ikterus. Untuk pengembangan selanjutnya, perlu dilakukan identifikasi senyawa aktif yang terdapat pada rimpang temulawak yang bertanggungjawab untuk menurunkan kadar bilirubin serta penelitian lebih lanjut mengenai mekanisme aksi molekulernya.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terimakasih diberikan kepada Badan Pengawas Obat dan Makanan RI atas bantuan Dana Hibah Penelitian tahun anggaran 2016.

DAFTAR PUSTAKA

- Azwanida, N.N. (2015). A review on the extraction methods use in medicinal plants, principle, strength, and limitation. *Medicinal & Aromatic Plants*. 4: 1-6.
- Badal, S., Delgoda, R. (2017). *Pharmacognos: Fundamentals, Applications, and Strategy*. (pp. 513-525). London: Elsevier.
- Badan Pengawas Obat dan Makanan RI. (2013). *Formularium Ramuan Etnomedisin Obat Asli Indonesia* (Vol III). (pp. 1-21). Jakarta: Badan Pengawas Obat dan Makanan RI.
- Bone, K., & Mills, S. (2013) *Principles and Practice of Phytotherapy* (Ed. II). (pp. 17-82). London: Churchill Livingstone Elsevier.
- Davern, T.J., James, L.P., Hinson, J.A., Polson, J., Larson, A.M., Fontana, R.J., Lalani, E., Munoz, S., Shakil, O.A., Lee, W.M., the Acute Liver Failure Study Group. (2006). Measurement of serum acetaminophen-protein adducts in patients with acute liver failure. *Gastroenterology*. 130: 687-694.
- Departemen Kesehatan RI. (1979). *Materia Medika Indonesia* (Ed. III). (pp. 63-70). Jakarta: Departemen Kesehatan RI.
- Departemen Kesehatan RI. (2008). *Farmakope Herbal Indonesia* (Ed. I). (pp. 149-154). Jakarta: Departemen Kesehatan RI.
- Fox, J.G., Barthold, S.W., Davisson, M.T., Newcomer, C.E., Quimby, F.W., Smith, A.L. (2007). *The Mouse in Biomedical Research: Normative Biology, Husbandry, and Models* (Ed. II). (pp. 198-200). Amsterdam: Elsevier.
- Gowda, S., Desai, P.B., Hull, V.V., Math, A.A.K., Vernekar, S.N., Kulkarni, S.S. (2009). A review on laboratory liver function tests. *Pan African Medical Journal*. 1-11.
- Guenther, E. (1948). *The Essential Oil* (Vol. I). (pp. 104-122). New York: Van Nostrand Reinhold Company.
- Halim, M.R.A., Tan, M.S.M.Z., Ismail, S., & Mahmud, R. 2012. Standardization and phytochemical studies of *Curcuma xanthorrhiza* Roxb. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*. 4: 606-610.

- Hayani, E. (2006). Analisis kandungan kimia rimpang temulawak. *Temu Teknis Nasional Tenaga Fungsional Pertanian*. 309-312.
- Heyne, K. 1987. *Tumbuhan Berguna Indonesia* (Ed. I). (pp. 601-602). Jakarta: Badan Litbang Kehutanan.
- Jantan, I., Saputri, F.C., Qaisar, M.N., Buang, F. (2012). Correlation between chemical composition of *Curcuma domestica* and *Curcuma xanthorrhiza* and their antioxidant effect on human low-density lipoprotein oxidation. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. 1: 2-10.
- Kim, S.H., Hong, K.O., Chung, W., Park, K. (2004). Abrogation of cisplatin-induced hepatotoxicity in mice by xanthorrhizol is related to its effect on the regulation of gene transcription. *Toxicology and Applied Pharmacology*. 196: 346-355.
- Kumar, K.E., Harsha, K.N., Sudheer, V., Babu, N.G. (2013). *In vitro* antioxidant activity and *in vivo* hepatoprotective activity of aqueous extract of *Allium cepa* bulb in ethanol induced liver damage in Wistar rats. *Food Science and Human Wellness*. 2: 132-138.
- Li, G., Chen, J., Wang, C., Xu, Z., Nie, H., Qin, X., Chen, X., Gong, Q. (2013). Curcumin protects against acetaminophen-induced apoptosis in hepatic injury. *World Journal of Gastroenterology*. 19: 7440-7446.
- LPPT UGM. (2016). *SOP Kadar Bilirubin Darah*. Yogyakarta: LPPT UGM.
- Manalu, L.P., Tambunan, A.H., Neiwan, L.O. (2012). Penentuan kondisi proses pengeringan temulawak untuk menghasilkan simplisia standar. *Jurnal Dinamika Penelitian Industri*. 23: 99-106.
- Novo, C., Weish, F. (2017). *Jaundice, Hepatobiliary Surgery*. (pp. 675-681). Basingstoke: Elsevier Ltd.
- Pramono, S. (2006). Pidato Pengukuhan Jabatan Guru Besar pada Fakultas Farmasi Universitas Gadjah Mada di Yogyakarta, 27 Maret 2006.
- Pramono, S., Arifah, F.H., Pribadi, F.H., Nugroho, A.E. (2018). Hepatoprotective activity of *Curcuma xanthorrhiza* Roxb. on paracetamol-induced liver damage in rats and correlation with their chemical compounds. *Thai Journal of Pharmaceutical Sciences*. 42: 188-195.
- Pramono, S., Wicaksono, A.J., dan Yuniarti, N. (2015). Pengaruh pemberian kombinasi minyak atsiri rimpang temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.) dan kurkuminoidnya terhadap efek analgetik pada mencit. *Traditional Medicine Journal*. 20: 16-23.
- Rahardjo, M. (2010). Penerapan SOP budidaya untuk mendukung temulawak sebagai bahan baku obat potensial. *Perspektif*. 9: 78-93.
- Rao, G.B., Rao, Y.V., Rao, T.M. (2012). Hepatoprotective activity of *Spilanthes acmella* extracts against CCl₄-induced liver toxicity in rats. *Asian Pacific Journal Tropical Medicine*. 208-211.
- Setty, S.R., Quereshi, A.A., Viswanath, A.H.M., Tushar, P., Prakash, T., Prabhu, K., Veran, G.A. (2007). Hepatoprotective activity of *Calotrophis procera* flowers against paracetamol induced hepatotoxicity in rats. *Fitoterapia*. 78: 451-454.
- Vongsak, B., Sithisarn, P., Mangmool, S., Thongpraditchote, S., Wongkrajang, Y., Gritsanapan, W. (2013). Maximizing total phenolics, total flavonoids contents and antioxidant activity of *Moringa oleifera* leaf extract by the appropriate extraction method. *Industrial Crops Products*. 44: 566-571.
- Zucker, S.D., Qin, X., Rouster, S.D., Yu, F., Green, R.M., Keshavan, P., Feinberg, J., Sherman, K.E. (2001). Mechanism of indinavir-induced hyperbilirubinemia. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 98: 12671-12676.