



## Aktivitas antimutagenik ekstrak metanol rimpang lengkuas (*Alpinia galanga*) terhadap sel eritrosit dalam sumsum tulang mencit secara in vivo

DIFLA ILFI CHASANA, RETNO ARIANINGRUM<sup>✉</sup>, SRI ATUN

♥ Alamat korespondensi:

Program Studi Kimia, Jurusan  
Pendidikan Kimia, Fakultas  
Matematika dan Ilmu Pengetahuan  
Alam, Universitas Negeri  
Yogyakarta. Jl. Colombo No. 1  
Yogyakarta 55281. Tel. +62-274-586-  
168. ✉email:  
arianingrum\_uny@yahoo.com

Manuskrip diterima: 5 Januari 2014.  
Revisi disetujui: 2 April 2014.

Chasanah DI, Arianingrum R, Atun S. 2014. Antimutagenic activity of methanol extracts of galangal rhizome (*Alpinia galanga*) on erythrocyte cell in mice bone marrow in vivo. *Bioteknologi* 11: 36-43. The purpose of this research was to determine the percentage of antimutagenic activity of methanol extract of galangal rhizome (*Alpinia galanga*) on erythrocyte cell in mice bone marrow in vivo. The research was conducted by using the micronucleus test on male mice in the age of 6-7 weeks and the body weight between 33.4-34 grams. The treatment was conducted by giving the ginger extract in the doses of 300 and 600 mg/kg bw orally, in which as a negative control Na-CMC was given in a dose of 50 mg/kg bw by peroral and as a positive control cyclophosphamide was given in a dose of 50 mg/kg bw by intraperitoneal. The treatment was carried out for 2 days, then on the second day, 6 hours after the second cyclophosphamide treatment, all mice sacrificed by the neck dislocation and dissected to take the bone marrow from the femoral bone. The bone marrow smear preparation was made to observe the number of micronucleus polychromatic cells erythrocytes (MNPCE). The results showed that the methanol extract of ginger rhizome has an antimutagenic activity. It was shown by the percentage of decreasing MNPCE on smear preparation. The extract at a dose of 300 mg/kg bw was able to reduce the number of MNPCE 77.267%, while the extract at a dose of 600 mg/kg bw was able to reduce the amount of MNPCE 63.630% compared to a positive control.

**Keywords:** *Alpinia galanga*, antimutagenic activity, erythrocyte cell, galangal rhizome

Chasanah DI, Arianingrum R, Atun S. 2014. Aktivitas antimutagenik ekstrak metanol rimpang lengkuas (*Alpinia galanga*) terhadap sel eritrosit dalam sumsum tulang mencit secara in vivo. *Bioteknologi* 11: 36-43. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui persentase aktivitas antimutagenik ekstrak metanol rimpang lengkuas (*Alpinia galanga*) terhadap sel eritrosit dalam sumsum tulang mencit secara in vivo. Penelitian ini dilakukan dengan menggunakan uji mikronukleus terhadap mencit jantan galur Balb-c umur 6-7 minggu dengan berat badan berkisar antara 33,4-34 gram. Perlakuan dilakukan dengan pemberian ekstrak lengkuas dosis 300 mg/kg BB dan 600 mg/kg BB secara peroral, dimana sebagai kontrol negatif diberikan Na-CMC dosis 50 mg/kg BB secara peroral dan sebagai kontrol positif diberikan siklofosfamid dosis 50 mg/kg BB secara intraperitoneal. Perlakuan dilakukan selama 2 hari, kemudian pada hari ke-2, 6 jam setelah pemberian siklofosfamid ke-2, semua mencit dikorbankan secara dislokasi leher dan dibedah untuk diambil sumsum tulang dari tulang paha. Sumsum tulang dibuat preparat apus untuk diamati jumlah sel polikromatik bermikronukleus atau micronucleus polychromatic cells erythrocytes (MNPCE). Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak metanol rimpang lengkuas memiliki aktivitas antimutagenik. Hal tersebut ditunjukkan dengan persentase penurunan MNPCE pada preparat apus. Ekstrak dengan dosis 300 mg/kg BB mampu menurunkan jumlah MNPCE sebesar 77,267%, sedangkan ekstrak dengan dosis 600 mg/kg BB mampu menurunkan jumlah MNPCE sebesar 63,630% dibandingkan dengan kontrol positif.

**Kata kunci:** Aktivitas antimutagenik, *Alpinia galanga*, rimpang lengkuas, sel eritrosit

## PENDAHULUAN

Asam deoksiribonukleat (DNA) merupakan sejenis asam nukleat yang tergolong biomolekul utama penyusun berat kering setiap mikroorganisme. Di dalam sel, DNA terletak di dalam inti sel. DNA berperan sebagai pembawa materi genetik dan menentukan struktur protein yang dikodekan. DNA merupakan suatu polimer yang terdiri dari tiga komponen utama, yaitu gugus fosfat, gula deoksiribosa, dan basa nitrogen. Basa nitrogen terdiri dari adenin (A), guanin (G), sitosin (S), dan timin (T) (Saefudin 2007).

Mutasi merupakan suatu perubahan yang terjadi pada urutan basa dari suatu gen, yang dapat menyebabkan perubahan pada produk yang dikode oleh gen tersebut. Mutasi dapat dikaitkan dengan timbulnya beragam kelainan, termasuk penyakit kanker. Selain dapat terjadi secara spontan, mutasi juga dapat diinduksi oleh berbagai faktor seperti radiasi, senyawa kimia, dan virus. Faktor-faktor penginduksi mutasi dikenal sebagai mutagen. Salah satu indikator terjadinya mutasi adalah adanya mikronukleus.

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

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

Upaya pencarian zat antimutagenik dari bahan alam perlu dilakukan. Hal tersebut dikarenakan penggunaan bahan alam sebagai antimutagen memiliki efek samping yang relatif rendah serta efek farmakologi yang sesuai untuk penyakit-penyakit metabolik dan degeneratif (Radji et al. 2004).

Tumbuhan dari keluarga temu-temuan (*Zingiberaceae*), seperti lengkuas, memiliki potensi untuk mengurangi terjadinya mutasi yang menyebabkan timbulnya berbagai jenis penyakit, terutama kanker. Oleh karena itu, perlu dilakukan penelitian untuk mengetahui ada tidaknya aktivitas antimutagenik rhizoma lengkuas (*Alpinia galanga*). Pada penelitian ini, pemilihan rimpang lengkuas didasarkan pada hasil penelitian yang telah dilakukan oleh Rusmalin (2003) yang menunjukkan bahwa lengkuas yang diekstraksi dengan etil asetat mengandung senyawa kiamia 1-asetoksikhavikol asetat atau 1-*acetoxy chavicol acetate* (ACA), yang berpotensi menghambat pertumbuhan sel kanker yang disebabkan oleh transplantasi sel tumor primer, diukur berdasarkan jumlah sel yang hidup dalam kultur dengan hemositometer. Dari hasil penelitian tersebut, kadar ACA tertinggi diperoleh dari rimpang lengkuas merah lokal (*Alpinia galanga* (L) Swartz) umur 9 bulan.

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui persentase aktivitas antimutagenik ekstrak metanol rimpang lengkuas (*Alpinia galanga*) terhadap sel eritrosit mencit secara *in vivo*. Dari hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi tentang manfaat senyawa bioaktif yang terkandung dalam ekstrak metanol rimpang lengkuas sebagai senyawa antimutagenik.

## BAHAN DAN METODE

### Alat dan bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini meliputi satu set alat pembacaan preparat yang terdiri dari mikroskop cahaya merek Olympus, kamera, dan *counter*, sentrifuge Hettich, seperangkat alat bedah yang terdiri dari gunting, pinset, dan pisau bedah, spruit oral, jarum tuberkulin, Eppendorf, gelas objek, *deckglaser*, neraca analitik, gelas beker, Erlenmeyer, gelas ukur 10 dan 100 ml, pipet volume 1 ml, pipet tetes, pengaduk, spatula, dan almari es.

Sementara itu, bahan yang digunakan yaitu bahan uji berupa ekstrak metanol rimpang lengkuas. Hewan uji yang digunakan yaitu mencit jantan umur 6-7 minggu dengan berat badan 33,64-34 gram. Mencit tersebut diperoleh dari Laboratorium Penelitian dan Pengujian Terpadu Universitas Gadjah Mada (LPPT UGM). Mencit ditempatkan dalam kandang yang berbeda untuk setiap perlakuan. Selama perlakuan, mencit diberi pakan dengan pelet-789 dan minuman dari air ledeng yang masing-

masing diberikan secara *ad-libitum*. Bahan kimia yang digunakan terdiri dari metanol teknis sebagai pelarut serbuk lengkuas, *carboxymethyl cellulose sodium* (Na-CMC) sebagai pensuspensi bahan uji, larutan siklofosfamid sebagai kontrol positif, xylol untuk fikasi preparat apus sumsum tulang, akuades untuk mencuci preparat, pewarna Giemsa untuk pewarnaan preparat, dan NaCl fisiologis digunakan saat mengambil sumsum tulang.

### Subjek dan objek penelitian

Subjek dalam penelitian ini adalah rimpang lengkuas yang diperoleh dari Pasar Beringharjo, Yogyakarta. Adapun objek dalam penelitian ini adalah aktivitas antimutagenik ekstrak metanol rimpang lengkuas yang ditunjukkan dengan adanya penurunan jumlah MNPCE dari preparat apus sumsum tulang mencit yang telah diberi siklofosfamid dan ekstrak metanol lengkuas pada berbagai variasi konsentrasi.

### Variabel penelitian

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah konsentrasi ekstrak metanol rimpang lengkuas yang diberikan pada hewan uji mencit jantan galur Balb-c, yaitu 300 dan 600 mg/kg BB. Adapun variabel terikat dalam penelitian ini adalah aktivitas antimutagenik ekstrak metanol rimpang lengkuas.

### Metode pengumpulan data

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

Pada penelitian ini digunakan mencit jantan galur Balb-c sebanyak 25 ekor. Hewan uji kemudian dibagi menjadi 5 kelompok perlakuan, masing-masing kelompok terdiri dari 5 ekor

mencit. Pengelompokan hewan uji berdasarkan perlakuan dapat dilihat pada Tabel 1.

### Cara kerja

#### Pembuatan ekstrak metanol

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

**Pembuatan ekstrak metanol.** Serbuk halus rimpang lengkuas sebanyak 5 kg dimasukkan ke dalam dirigen ukuran 25 L kemudian diberi metanol sebanyak 10 L. Metanol yang digunakan berupa metanol teknis. Maserasi dilakukan selama 24 jam pada suhu kamar dan dilakukan pengulangan sebanyak 2 kali. Penyaringan dengan kain saring dilakukan setiap 1x24 jam. Kemudian serbuk basah (residu) dimaserasi kembali dengan menggunakan metanol. Hasil penyaringan kemudian diuapkan menggunakan evaporator Buchi dengan tujuan agar pelarut metanol menguap sehingga diperoleh ekstrak pekat.

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

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

#### Pembuatan siklofosfamid dosis 50 mg/kg BB dalam air steril

Pembuatan larutan siklofosfamid dosis 50 mg/kg BB dalam air steril disesuaikan dengan berat badan mencit yang akan diinduksi. Jika mencit mempunyai berat 34 gr, siklofosfamid yang dibutuhkan yaitu sebesar:

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

**Tabel 1.** Pembagian kelompok dan perlakuan terhadap hewan uji

Kelompok	Perlakuan	Dosis ekstrak (mg/kg BB)	Keterangan
I	Siklofosfamid	50	Kontrol positif
II	Na-CMC 1%	50	Kontrol negatif
III	Ekstrak metanol lengkuas	600	Perlakuan 2
IV	Ekstrak metanol dan siklofosfamid	300* dan 50**	Perlakuan 3
V	Ekstrak metanol dan siklofosfamid	600* dan 50**	Perlakuan 4

Keterangan: \*Dosis untuk ekstrak metanol lengkuas, \*\*dosis untuk siklofosamid

Tabel 2. Perlakuan terhadap hewan uji

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

Keterangan: \*Semua perlakuan setelah mencit dipuasakan terlebih dahulu selama 18 jam, larutan S1 = larutan siklofosamid dosis 50 mg/kg BB dalam air steril, ekstrak L = larutan metanol rimpang lengkuas 600 mg/kg BB, ekstrak L1 = ekstrak metanol rimpang lengkuas dosis 300 mg/kg BB dalam Na-CMC 1%, ekstrak L2 = ekstrak metanol rimpang lengkuas dosis 600 mg/kg BB dalam Na-CMC 1%

Adapun apabila stok larutan siklofosamid dalam air steril yang tersedia adalah 1%, jumlah larutan yang diinduksikan secara intra-peritoneal ke hewan uji yaitu sebesar:

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

#### Pembuatan sediaan bahan uji

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

**Ekstrak metanol lengkuas dengan dosis 300mg/kg BB.** Jika mencit mempunyai berat 34 g, ekstrak yang dibutuhkan yaitu sebesar:

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

Adapun apabila stok larutan ekstrak metanol lengkuas dalam Na-CMC yang tersedia sebanyak 1%, ekstrak yang diberikan secara peroral pada mencit yaitu sebesar:

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

**Ekstrak metanol lengkuas dengan dosis 600 mg/kg BB.** Jika mencit mempunyai berat 34 g, ekstrak yang dibutuhkan yaitu sebesar:

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

Adapun apabila stok larutan ekstrak metanol lengkuas dalam Na-CMC yang tersedia sebesar 1%, ekstrak yang diberikan secara peroral pada mencit yaitu sebesar:

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

#### Perlakuan pada hewan uji

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

Setiap kelompok mencit ditempatkan dalam kandang plastik yang berbeda dengan alas sekam, suhu ruangan 23-25°C, kelembapan udara 70-85%, dan intensitas cahaya diatur dengan regulator 12 jam terang dan 12 jam gelap. Sebelum perlakuan, mencit dipuasakan terlebih dahulu selama 18 jam, namun selama perlakuan semua mencit diberi pakan berupa pelet-789 dan minum berupa air ledeng yang masing-masing diberikan secara *ad-libitum*.

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

Kemudian pada hari ke-2, 6 jam setelah pemberian siklofosamid, semua mencit dimatikan dengan cara dislokasi leher dan dibedah untuk diambil sumsum tulangnya. Perlakuan terhadap hewan uji dapat dilihat pada Tabel 2.

#### Pembuatan preparat apus sumsum tulang mencit

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

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

Apabila hasil yang diperoleh dari pengamatan mikroskopik preparat apus kurang jelas, preparat difiksasi kembali menggunakan metanol 30%, 50%, 70%, dan 80% serta metanol absolut secara bertingkat masing-masing selama 10 menit. Pada akhir setiap proses fiksasi menggunakan metanol, preparat dicuci dengan air mengalir. Pada tahap terakhir, preparat difiksasi dengan menggunakan xylol selama 10 menit, kemudian preparat dicuci dengan air mengalir dan dikeringkan kembali pada suhu kamar. Preparat diamati kembali jumlah MNPCE di bawah mikroskop dengan perbesaran 1000 kali untuk setiap 1000 (PCE).

### Analisis data

Analisis data dilakukan secara deskriptif kualitatif terhadap hasil pengamatan secara mikroskopik dan perbandingan kuantitatif terhadap hasil pengamatan jumlah MNPCE (*mikronucleus polychromatic cell erythrocyte*) antara kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan. Perhitungan persentase MNPCE merujuk pada Luzhna et al. (2013).

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Hasil

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui persentase aktivitas antimutagenik ekstrak metanol rimpang lengkuas terhadap sel eritrosit dalam sumsum tulang mencit secara *in vivo*. Aktivitas antimutagenik ini ditunjukkan dengan adanya penurunan jumlah MNPCE pada preparat apus sumsum tulang mencit yang telah diberi ekstrak metanol lengkuas dan diinduksi dengan siklofosamid (Tabel 3).

**Tabel 3.** Rerata jumlah MNPCE pada preparat apus sumsum tulang mencit

Kelompok	Perlakuan	Rerata Jumlah MNPCE $\pm$ SD	Penurunan Jumlah MNPCE (%)
I	Na-CMC 1% 0		-
II	Larutan S1	7,333 $\pm$ 1,247	-
III	Ekstrak L	0	-
IV	Ekstrak L1	1,667 $\pm$ 1,247	64,273
V	Ekstrak L2	2,667 $\pm$ 1,247	52,930

### Pembahasan

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

Mikronukleus merupakan anak inti sel yang berbentuk bulat kecil dan berada di sekitar sitoplasma sel eritrosit serta mempunyai ukuran kurang lebih 1/20-1/5 bagian dari inti sel induk. Mikronukleus berasal dari fragmen asentrik atau kromosom yang tertinggal pada saat sel melakukan mitosis sebagai hasil kerusakan atau cacat pada perlengkapan benang kromosom, sehingga mikronukleus terbentuk pada stadium anafase (Purwadiwarsa 2000).

Metode penentuan mikronukleus (MN) dapat dilakukan pada berbagai variasi sel yang terdapat pada sumsum tulang hewan Rodentia. Oleh karena itu, untuk mengurangi variabel pengganggu yang dapat mempengaruhi pengamatan, penelitian ini hanya dilakukan pada salah satu tipe sel yaitu PCE (Gambar 1) dari apusan sumsum tulang mencit. Terbentuknya MNPCE pada preparat apus sumsum tulang mencit ditandai dengan ketidaknormalan gen yang mengatur pertumbuhan dan diferensiasi sel-sel yang mengakibatkan timbulnya mutasi genetik yang sangat potensial menghasilkan sel kanker (Velde et al. 1990). Sumsum tulang yang digunakan adalah tulang paha (*femur*). Hal tersebut dikarenakan tulang paha berbentuk lurus dan ukurannya relatif besar, sehingga memudahkan dalam pengambilan sumsum tulang.

Pada penelitian ini, pembentukan mikronukleus diinduksi oleh siklofosamid monohidrat. Siklofosamid adalah senyawa antikanker yang termasuk dalam senyawa pengalkil. Penggunaan siklofosamid sebagai agen mutagenik mempunyai efek merusak sumsum tulang, sehingga dapat mengganggu

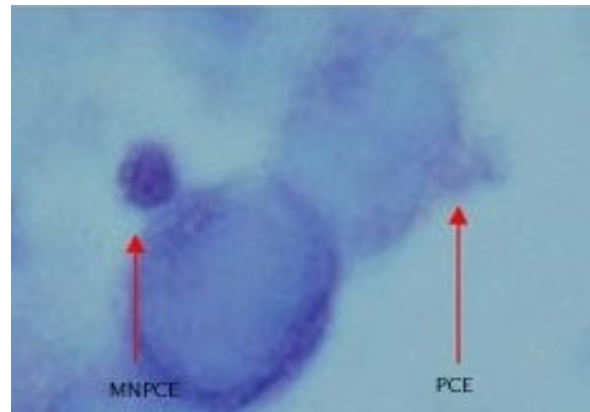
produksi dari beberapa atau semua bentuk elemen darah yang dapat menyebabkan anemia, leukopenia, dan trombositopenia (Aronson dan Smith 1992).

Menurut Czyzewska dan Mazur (1995), siklofosamid mampu menginduksi pembentukan mikronukleus melalui metabolit aktifnya yang bersifat pengalkalis, yaitu mustard fosfamid, akrolein, dan 4-hidroksisiklofosamid. Senyawa pengalkalis tersebut dapat berikatan dengan berbagai gugus fungsi komponen sel, termasuk basa-basa DNA. Ikatan tersebut antara lain mengakibatkan peristiwa pindah silang DNA maupun patahan rantai DNA yang diduga menyebabkan terjadinya patahan kromosom dan dapat terlihat sebagai mikronukleus. Metabolisme siklofosamid dilaporkan menyebabkan peningkatan radikal anion superoksida dan hidroksil yang diduga ikut berperan dalam menginduksi pembentukan mikronukleus (Ramu 1996).

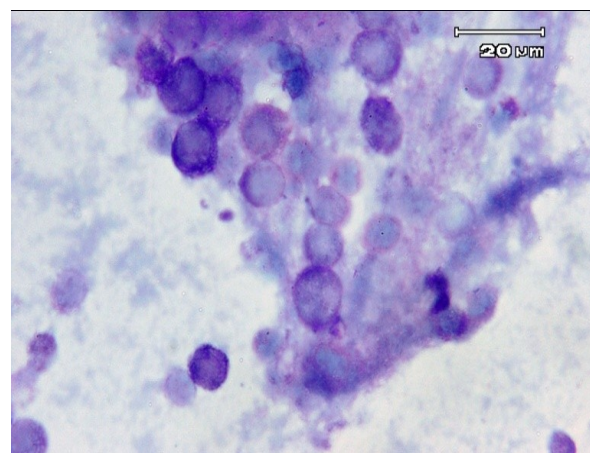
Berdasarkan rerata jumlah MNPCE dari apusan sumsum tulang mencit terlihat bahwa pada kelompok I yaitu kelompok hewan uji dengan pemberian larutan Na-CMC dosis 50 mg/kg BB, tidak mengandung MNPCE. Hal tersebut menunjukkan bahwa pemberian larutan Na-CMC tidak menyebabkan mutasi genetik, sehingga larutan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

Hasil mikroskopis sel eritrosit pada kelompok I (Gambar 2) memperlihatkan bahwa sel eritrosit normal tidak menunjukkan adanya mikronukleus.

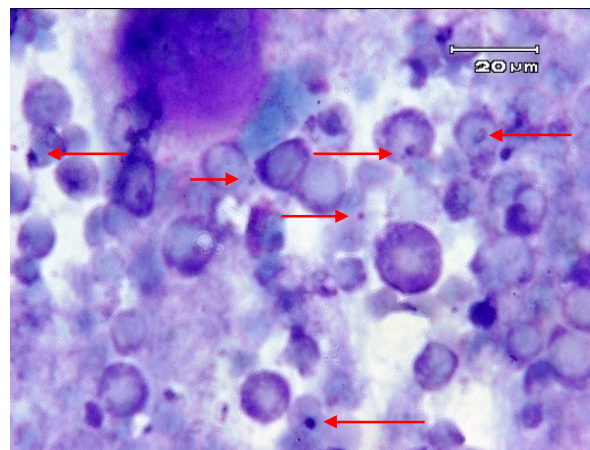
Pada kelompok II yaitu kelompok hewan uji dengan pemberian siklofosamid dosis 50 mg/kg BB, menunjukkan rata-rata jumlah MNPCE sebesar 7,333 per 100 sel. Jumlah ini paling besar dibandingkan dengan kelompok perlakuan yang lain. Hal tersebut berarti bahwa pemberian siklofosamid menyebabkan terbentuknya MNPCE, atau dapat dikatakan bahwa larutan tersebut bersifat mutagenik. Banyaknya MNPCE yang terbentuk dapat dilihat dari hasil mikroskopis preparat apus sumsum tulang pada kelompok II (Gambar 3).



**Gambar 1.** Sel PCE



**Gambar 2.** Gambar mikroskopis eritrosit normal kelompok I dengan pembesaran 100x



**Gambar 3.** Gambar mikroskopis MNPCE kelompok II (kontrol positif) dengan perbesaran 100x

Siklofosamid yang diinjeksikan ke dalam tubuh mencit akan diubah oleh enzim oksidase yang ada di dalam hati menjadi metabolit aktifnya, yaitu 4-hidroksi siklofosamid yang seimbang dengan aldofosamid, mustard

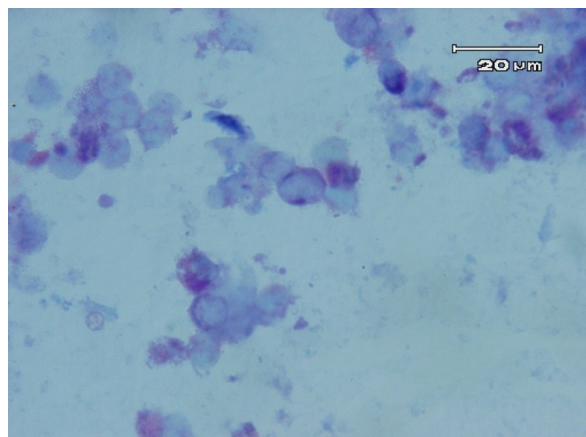
fosfamida, dan akrolein. Metabolit tersebut merupakan pengalkilasi yang dapat memberikan efek sitotoksik melalui transfer kelompok alkilnya ke berbagai konstituen seluler, termasuk basa DNA. Target peracunan utama dari alkilator tersebut adalah pada sumsum tulang (Czyzewska dan Mazur 1995).

Mekanisme penting alkilasi (mustard fosfamida) di dalam DNA adalah pada posisi N7 guanin, namun banyak basa lain yang juga dialkisasi, termasuk N1 dan N3 adenin, N3 sitosin, dan O6 guanin, serta atom-atom fosfat dan protein yang terkait dengan DNA. Interaksi tersebut terjadi pada rantai tunggal atau pada kedua rantai DNA melalui rangkai silang (*cross-linking*). Alkilasi guanin menyebabkan *miscoding* (pengkodean yang keliru) melalui pemasangan basa yang abnormal dengan timin atau menyebabkan depurinisasi melalui eksitasi residu guanin. Efek yang terakhir tersebut dapat menyebabkan pecahnya rantai DNA melalui pemisahan kerangka DNA gula-fosfat. Akibatnya, dari reaksi-reaksi tersebut antara lain dapat mengakibatkan terjadinya patahan rantai DNA yang menyebabkan terjadinya patahan kromosom dan terlihat sebagai mikronukleus (Purwadiwarsa 2000).

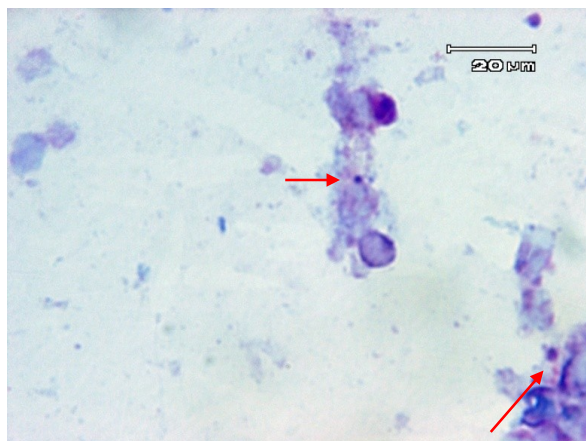
Hasil pengamatan pada kelompok III, yaitu pemberian ekstrak metanol rimpang lengkuas dengan dosis 600 mg/kg BB, tidak menyebabkan mutasi genetik. Hal tersebut ditunjukkan dengan tidak terbentuknya MNPCE. Hasil pengamatan ini dibuktikan dengan penampilan hasil mikroskopis preparat apus sumsum tulang menci (Gambar 4), terlihat eritrosit normal tanpa adanya MNPCE.

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

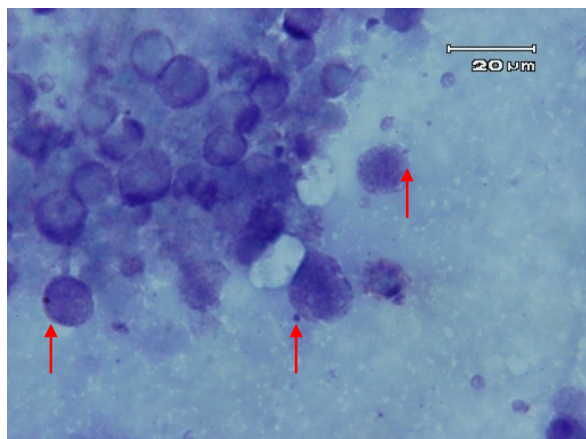
Pada kelompok IV, dengan pemberian ekstrak metanol rimpang lengkuas dosis 300 mg/kg BB dan siklofosfamid dosis 50 mg/kg BB, terjadi penurunan jumlah MNPCE sebesar 77,267% jika dibandingkan dengan kontrol positif. Hasil pengamatan pada kelompok IV secara mikroskopis (Gambar 5) memperlihatkan bahwa MN yang terbentuk lebih sedikit dibandingkan dengan kelompok II.



**Gambar 4.** Gambar mikroskopis sel eritrosit normal kelompok III dengan perbesaran 100x



**Gambar 5.** Gambar mikroskopis MNPCE kelompok IV dengan pembesaran 100x



**Gambar 6.** Gambar mikroskopis MNPCE kelompok V dengan perbesaran 100X

Berdasarkan hasil pengamatan pada kelompok V, dengan perlakuan pemberian ekstrak metanol rimpang lengkuas dosis 600 mg/kg BB dan siklofosfamid dosis 50 mg/kg BB, terjadi penurunan persentase jumlah MNPCE yang lebih kecil jika dibandingkan dengan kelompok IV, yaitu sebesar 63,630% dibandingkan dengan kontrol positif. Hasil mikroskopis preparat apus sumsum tulang kelompok V dapat dilihat pada Gambar 6.

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

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

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

## KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian ini maka dapat disimpulkan bahwa rimpang lengkuas (*Alpinia galanga*) memiliki aktivitas antimutagenik. Hal tersebut ditunjukkan dengan persentase penurunan MNPCE pada dosis 300 mg/kg BB sebesar 77,267% dan pada dosis 600 mg/kg BB sebesar 63,630% dibandingkan dengan kontrol positif.

## DAFTAR PUSTAKA

- Aronson JK, Grahame SDG. 1992. Oxford textbook of clinical pharmacology and drug therapy. Oxford University Press, Tokyo.
- Bosman, Velde FT, Vande CJH et al. 1990. Onkologi. Gadjah Mada University Press, Yogyakarta.
- Czyzewska A, Mazur L. 1995. Suppressing effect of WR-2721 on micronuclei induced by cyclophosphamide in mice. *Teratogen Carcinogen Mutagen* 15 (3): 109-114
- Hartono NWB. 2009. Pengaruh *Alpinia galanga* (Lengkuas) terhadap Aktivitas Apoptosis pada Adenokarsinoma Mamma Mencit C3H. [Tesis]. Universitas Diponegoro, Semarang.
- Luzhna L, Kathiria P and Kovalchuk O. 2013. Micronuclei in genotoxicity assessment: from genetics to epigenetics and beyond. *Front Genet* 4: 131. DOI: 10.3389/fgene.2013.00131
- Purwadiwarsa DJ, Subarnas A, Hardiansyah C et al. 2000. Aktivitas antimutagenik dan antioksidan daun puspa (*Schima wallichii* Kort). *Cermin Dunia Kedokteran* No. 127.
- Radji M, Sumiati A, Indani N. 2004. Uji Mutagenesitas dan Antikanker Ekstrak Aseton dan N-heksana dari Kulit Batang Sesoot (*Garcinia picrororrhiza* Miq.). Departemen Farmasi UI, Jakarta.
- Ramu K. 1996. Studies on the basis for the toxicity of acrolein mercapturates. *Toxicol Appl Pharmacol* 140 (2): 487-498.
- Rusmalin H. 2003. Aktivitas Anti-kanker Ekstrak Rimpang Lengkuas Lokal (*Alpinia galanga* (L) Sw.) pada Alur Sel Kanker Manusia serta Mencit yang Ditransplantasi dengan Sel Tumor Primer. [Tesis]. Program Pascasarjana IPB, Bogor.
- Saefudin. 2007. Handout Genetika. Jurusan Pendidikan Biologi FMIPA Universitas Pendidikan Indonesia, Bandung.
- Tranggono S, Haryadi, Suparmo et al. 1991. Bahan tambahan makanan (food additive). PAU Pangan dan Gizi, Universitas Negeri Yogyakarta, Yogyakarta.
- Wariantio C. 2011. Mutasi. Universitas Airlangga, Surabaya.