

BIDANG KESEHATAN

LAPORAN

HIBAH PENELITIAN STRATEGIS NASIONAL
TAHUN ANGGARAN 2009



JUDUL PENELITIAN

MILIK
PERPUSTAKAAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA

PENGEMBANGAN SEDIAAN OBAT HERBAL TERSTANDAR CAMPURAN EKSTRAK TEMU
KUNCI (*KAEMPERIA PANDURATA* ROXB) DAN SAMBILOTO (*ANDROGRAPHIS*
PANICULATA NESS) SEBAGAI KEMOPREVENTIF KANKER

Ketua

Prof.Dr.Sukardiman,Apt,MS

Anggota :

Dr.Hanni Plumeriastuti , MKes, drh
Tutik Sri Wahyuni,SSi, Apt,MSi

Dibiayai DIPA/APBN Rupiah Murni Tahun Anggaran 2009, Sesuai
Dengan Surat Keputusan Rektor UNAIR , tentang Kegiatan
Penelitian Strategis Nasional
Nomor: 276/H-3/KR/2009, Tanggal 16 Februari 2009

UNIVERSITAS AIRLANGGA

Desember 2009

BIDANG KESEHATAN

LAPORAN

HIBAH PENELITIAN STRATEGIS NASIONAL
TAHUN ANGGARAN 2009



JUDUL PENELITIAN

KKB
KK-2
LP-108/10
SUK
P

MILIK
PERPUSTAKAAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SORBAYA

**PENGEMBANGAN SEDIAAN OBAT HERBAL TERSTANDAR CAMPURAN EKSTRAK TEMU
KUNCI (*KAEMPERIA PANDURATA* ROXB) DAN SAMBILOTO (*ANDROGRAPHIS
PANICULATA* NESS) SEBAGAI KEMOPREVENTIF KANKER**

Ketua

Prof.Dr.Sukardiman,Apt,MS

Anggota :

Dr.Hanni Plumeriastuti , MKes, drh
Tutik Sri Wahyuni,SSi, Apt,MSi

**Dibiayai DIPA/APBN Rupiah Murni Tahun Anggaran 2009, Sesuai
Dengan Surat Keputusan Rektor UNAIR , tentang Kegiatan
Penelitian Strategis Nasional
Nomor: 276/H-3/KR/2009, Tanggal 16 Februari 2009**

UNIVERSITAS AIRLANGGA

Desember 2009

LEMBAR PENGESAHAN

1. Judul :
PENGEMBANGAN SEDIAAN OBAT HERBAL TERSTANDAR CAMPURAN EKSTRAK TEMU KUNCI (KAEMPERIA PANDURATA ROXB) DAN SAMBILOTO (ANDROGRAPHIS PANICULATA NESS) SEBAGAI KEMOPREVENTIF KANKER

2. Ketua Peneliti

a. Nama Lengkap : **Prof. Dr.Sukardiman,Apt,MS**
 b. Bidang Keahlian : Botani – Farmakognosi
 c. Jabatan Struktural : Sekretaris Program S2 Ilmu Farmasi
 d. Jabatan Fungsional : Guru Besar
 e. Unit Kerja : Fakultas Farmasi Universitas Airlangga
 f. Alamat Surat : Kampus C Unair, Jl. Mulyorejo Surabaya
 g. Telpun / fax : 5995246 / 5995346
 h. R-mail : maman_ht@yahoo.com

3. Anggota Peneliti

No	Nama dan gelar akademik	Bidang Keahlian	Instansi	Alokasi waktu (jam/minggu)
1	Dr.Hanni Plumeriastuti, MKes, drh	Patologi Anatomi	Fakultas Kedokteran Hewan Unair	10
2.	Dra.Tutik Sri Wahyuni ,Apt,MS	Fitokimia	Fakultas Farmasi Unair	10

4. Masa pelaksanaan Penelitian

Mulai : Maret 2009 berakhir Desember tahun 2009

5. Anggaran yang diusulkan : Rp.100.000.000,-
 Anggaran yang disetujui : Rp.60.000.000,-

Surabaya, 10 Desember 2009

Peneliti Utama / Ketua Komisi Pengembangan Obat Tradisional LPPM Unair

Prof.Drs.Sukardiman,Apt,MS

NIP : 131 801 629

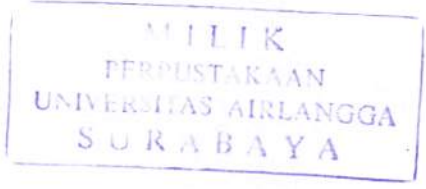
Mengetahui

Ketua Lembaga Penelitian dan Pengabdian Masyarakat
 Universitas Airlangga



Prof.Dr.Bambang Sektiari L, DEA,drh

NIP : 131 837 004



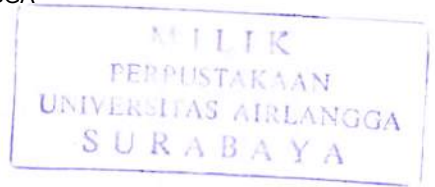
DAFTAR ISI

	Halaman
DAFTAR ISI	1
ABSTRAK	2
BAB I LATAR BELAKANG	3
BAB II TUJUAN DAN MANFAAT PENELITIAN	7
BAB III TINJAUAN PUSTAKA	8
BAB IV METODOLOGI PENELITIAN	16
BAB V HASIL DAN PEMBAHASAN PENELITIAN	20
BAB VI KESIMPULAN DAN SARAN	45
BAB VII DAFTAR PUSTAKA	46

ABSTRAK

Telah dilakukan pengembangan campuran ekstrak sambiloto dan ekstrak temu kunci menjadi sediaan obat herbal terstandar (OHT). Tahapan penelitian adalah melakukan standarisasi simplisia temu kunci dan sambiloto, ekstraksi dan standarisasi campuran ekstrak temu kunci dan sambiloto. Senyawa marker yang digunakan adalah pinostrobin untuk temu kunci dan andrografolida untuk sambiloto.

Dari hasil penelitian diperoleh hasil penentuan parameter spesifik simplisia herba sambiloto diperoleh kadar sari larut air ($18,31 \pm 0,214$)%, kadar sari larut etanol ($12,47 \pm 0,116$)%, kadar andrografolida dalam simplisia sambiloto sebesar ($2,61 \pm 0,224$)% sedangkan hasil penentuan parameter non spesifik simplisia herba sambiloto diperoleh kadar abu total ($11,17 \pm 0,286$)%, kadar abu larut air ($4,52 \pm 0,139$)%, kadar abu tidak larut asam ($0,80 \pm 0,087$)%, kadar air ($8,78 \pm 0,191$)%, dan susut pengeringan sebesar ($8,47 \pm 0,166$)%. Hasil penentuan parameter spesifik ekstrak etanol sambiloto kadar andrografolida dalam ekstrak sebesar ($14,91 \pm 0,514$)% dan kadar andrografolida dalam pengering $6,48 \pm 1,17\%$; sedangkan hasil penentuan parameter non spesifik diperoleh susut pengeringan ekstrak sebesar ($4,61 \pm 0,717$)%, kadar cemaran logam berat Cu ($1,47 \pm 0,049$) ppm dan Hg 0,002 ppm, dan negatif terhadap Pb, As, dan Cd serta bebas mikroba patogen . Hasil penentuan parameter spesifik simplisia temu kunci (*Kaempferia pandurata* Roxb) diperoleh kadar sari larut air (4,41)%, kadar sari larut etanol ($3,2 \pm 0,11$)%, dan kadar pinostrobin dalam simplisia sebesar (2,64)% . Diperoleh nilai parameter spesifik ekstrak etanol rimpang temu kunci yaitu kadar pinostrobin dalam ekstrak sebesar 4,43 %. Campuran ekstrak etanol herba sambiloto (*Andrographis paniculata* Nees.) dan rimpang temu kunci dengan perbandingan (1 : 1) kandungan bahan aktifnya, memiliki toksisitas akut lebih besar dari 21 gram/kgBB mencit atau termasuk golongan bahan yang relative tidak toksik.



BAB I. PENDAHULUAN

1. Latar Belakang

Dewasa ini penyakit kanker merupakan penyebab kematian terbesar setelah penyakit kardiovaskular . Usaha penanggulangan terhadap penyakit ini telah banyak dilakukan, utamanya dengan obat-obatan kemoterapi antikanker yang beredar saat ini, tetapi bahaya efek samping yang ditimbulkan oleh obat-obatan tersebut tidak dapat dihindarkan. Oleh karena itu penelitian dan pencarian obat baru khususnya yang berasal dari bahan alam khususnya tanaman obat sangat terus dikembangkan.

Kombinasi temu kunci (*Kaempferia pandurata* Roxb) dan herba sambiloto (*Andrographis paniculata* Nees) banyak digunakan secara tradisional sebagai obat antikanker. Seiring dengan itu ternyata data ilmiah tentang penelitian antikanker dari kedua tanaman tersebut baik secara *in vitro* maupun *in vivo* sudah cukup lengkap, di mana telah diketahui kandungan pinstrobin temu kunci (*Kaempferia pandurata* Roxb) dan kandungan andrografolida dari sambiloto sebagai senyawa bioaktif antikankernya. Sehingga temu kunci dan sambiloto sangat potensial untuk dikembangkan menjadi sediaan obat herbal tersandar (OHT). Obat herbal tersandar adalah sediaan obat bahan alam yang telah dibuktikan keamanan dan khasiatnya secara ilmiah dengan uji praklinik dan bahan bakunya telah terstandarisasi.

Sebagai upaya meningkatkan status obat tradisional dari campuran temu kunci dan sambiloto menjadi sediaan obat herbal terstandar maka sediaan tersebut harus dibuat dalam bentuk ekstrak yang tersandar , serta memenuhi beberapa persyaratan antara lain : (1) jaminan *quality* (kualitas) , di mana bahan *simplicia* dan ekstrak harus memenuhi persyaratan tentang keajegan dari kandungan aktif (senyawa marker) , (2) jaminan *safety* (keamanan) , dimana bahan ekstrak harus aman atau tidak toksik pada hewan coba yang dipersyaratkan dan (3) jaminan *efficacy* (manfaat / khasiat) , di mana bahan campuran ekstrak temu kunci dan sambiloto harus menunjukkan aktivitas antikanker dan kemopreventif pada uji praklinik dengan hewan coba.

Di samping penyakit jantung , kanker adalah penyebab kematian utama di Amerika Serikat yang menyebabkan lebih dari 500.000 kematian pertahun. Sedangkan insiden kanker di Indonesia diperkirakan 100 per 100.000 pertahun atau sekitar 200.000 penduduk pertahun. Pada survey kesehatan rumah tangga yang diselenggarakan Badan Litbangkes , Departemen Kesehatan ditemukan bahwa 1,4 % dari seluruh kematian disebabkan oleh kanker. Angka ini meningkat menjadi 3,4% pada tahun 1980 dan menjadi 4,3% pada tahun 1986 (Katzung, 1995 ; Dalimartha, 2002).

Kanker adalah adalah suatu penyakit di mana terjadi pertumbuhan sel-sel jaringan tubuh yang tidak normal , cepat dan tidak terkendali. Sel-sel kanker akan terus membelah diri terlepas dari pengendalian pertumbuhan . Bila pertumbuhan ini tidak cepat dihentikan dan diobati maka sel kanker akan tumbuh menyusup ke jaringan lain sekitarnya (invasif) dan menyebar (metastatis) ketempat yang lebih jauh melalui pembuluh darah atau pembuluh getah bening , selanjutnya akan tumbuh kanker baru ditempat lain dan akhirnya menyebabkan kematian penderita (Katzung, 1995 ; Dalimartha, 2002).

Obat kemoterapi atau obat antikanker yang ideal seharusnya dapat selektif membunuh sel kanker saja tanpa mempengaruhi atau membahayakan jaringan normal, sehingga tidak menyebabkan efek samping terhadap pemakainya. Sampai sekarang belum dapat ditemukan obat antikanker yang memenuhi kriteria tersebut diatas, disamping itu dilaporkan adanya beberapa jenis kanker yang resisten terhadap obat-obat kemoterapi. Sehingga dewasa ini telah dilakukan usaha – usaha penelitian terhadap pencarian bahan obat antikanker yang lebih selektif yaitu melalui penapisan ataupun isolasi bahan obat dari tanaman, desain rasional senyawa obat baru ataupun penggunaan terapi gen (Katzung, 1995).

Program nasional dalam usaha mencari penemuan obat baru dari sumber atau bahan alam sekarang ini adalah dengan menggunakan paradigma baru. Paradigma baru dalam riset penemuan obat tersebut adalah dengan menggabungkan dua kekuatan sumber daya raksasa yang ada yaitu sumber alam hayati Indonesia dengan hasil-hasil riset dunia mengenai genom manusia dan genom lainnya. Dan akhirnya akan diperoleh lead compound (senyawa penuntun) untuk dikembangkan menjadi obat baru (Sudoyo,1997 ; Setiawan, 1997 ; Fauth,1997, Marzuki, 1998).

Dalam teknologi *High Throughput Screening* (HTS) dimulai dari skrining terhadap ekstrak-ekstrak tanaman Indonesia sebagai *chemical library* dengan menggunakan berbagai

metode penapisan. Dalam proses penemuan obat melalui HTS dilakukan penapisan tahap kedua dalam bentuk penapisan tingkat fraksi dari ekstrak, dan dilanjutkan dengan isolasi dan identifikasi dari senyawa bioaktif dan uji farmakologi (Sudoyo,1997 ; Setiawan, 1997 ; Fauth,1997, Marzuki, 1998).

Upaya pencarian dan penemuan senyawa bioaktif dari tanaman obat Indonesia yang memiliki aktivitas antikanker secara *in vitro* terhadap kultur sel kanker payudara manusia yaitu senyawa flavonoid pinostrobin dari rimpang temu kunci (*Kaempferia pandurata*) telah dilakukan oleh Ermawati, 1996 ; Sukardiman, 1999 dan Bail , 2000 . Penelitian Bail *et al* (2000) telah dilakukan penelitian efek antikanker secara *invitro* dari senyawa pinostrobin pada kultur sel line MCF-7 atau *human breast cancer*, di mana hasil penelitian tersebut menunjukkan bahwa senyawa pinostrobin menunjukkan efek antikanker terhadap kultur sel kanker payudara manusia dengan meknisme hambatannya adalah menghambat reseptor aromatase. Senyawa andrografolida (*Andrographis paniculata* Ness) menunjukkan aktivitas antikanker secara *in vitro* terhadap sel kanker leukemia, mieloma , HeLa dan uji aktivitas antikanker secara *in vivo* pada kanker fibrosarcoma mencit hasil induksi dengan benzopirena (Sukardiman, 2003).

Hasil penelitian Sukardiman (1999-2000) tersebut telah diketahui bahwa senyawa pinostrobin dari temu kunci dan senyawa andrografolida (*Andrographis paniculata* Ness) dapat menghambat enzim DNA Topoisomerase sel kanker payudara manusia , dimana enzim DNA Topoisomerase mempunyai fungsi yang penting dalam proses intraseluler, yaitu berperan dalam proses replikasi, transkripsi , rekombinasi DNA dan proses proliferasi dari sel kanker. Dengan dihambatnya aktivitas enzim DNA Topoisomerase oleh senyawa inhibitor, maka proses terjadinya ikatan antara enzim dengan DNA sel kanker semakin lama. Sehingga akan terbentuk *Protein Linked DNA Breaks* (PLDB), akibatnya terjadi fragmentasi / kerusakan DNA sel kanker dan selanjutnya berpengaruh terhadap proses didalam sel khususnya proses replikasi sel yang diakhiri dengan kematian sel kanker secara apoptosis. Senyawa pinostrobin dari rimpang temu kunci juga memiliki aktivitas antikanker terhadap kultur sel kanker mieloma (Sukardiman, 2002). Peneliti juga telah melakukan uji aktivitas antikanker secara *in vivo* dari pinostrobin dari rimpang temu kunci terhadap kanker fibrosarcoma mencit hasil induksi dengan benzopirena, dan didapat hasil bahwa senyawa pinostrobin dapat menghambat pertumbuhan kanker fibrosarcoma secara bermakna. Dengan data tersebut dapat dilihat bahwa senyawa pinostrobin dari temu kunci (*Kaempferia pandurata* Roxb) dan senyawa andrografolida

(*Andrographis paniculata*.Ness) sangatlah prospektif guna dijadikan bahan obat antikanker yang berasal dari bahan tanaman obat Indonesia. Disamping itu senyawa pinostrobin dan andrografolida juga memiliki aktivitas kemoreventif dan kemoterapi terhadap kanker fibrosarcoma mencit hasil induksi benzopirena. (Sukardiman, 2007).

Dalam upaya mendapatkan efek terapi yang konstan, maka perlu dilakukan standarisasi terhadap bahan baku obat yang akan digunakan. Walaupun pengembangan obat tradisional menggunakan konsep pendekatan multikomponen (konsep fitofarmaka), bukan strategi penemuan zat tunggal seperti pada obat modern, tetapi penelitian mengenai senyawa tunggal dalam tanaman yang memberikan aktifitas menjadi sangat penting. Ini dikarenakan senyawa aktif tersebut dapat menjadi marker (penanda) bagi kejagan kandungan kimia dari bahan baku obat fitofarmaka yang umumnya berupa fraksi aktif tanaman. Tahapan penelitian adalah melakukan standarisasi simplisia temu kunci dan sambiloto, ekstraksi dan standarisasi campuran ekstrak temu kunci dan sambiloto. Senyawa marker yang digunakan adalah pinostrobin untuk temu kunci dan andrografolida untuk sambiloto. Selanjutnya dilakukan penentuan aktivitas antikanker secara *in vivo* terhadap kanker fibrosarkoma mencit hasil induksi benzopirena dan dilanjutkan dengan uji toksisitas yang meliputi toksisitas akut, sub akut, teratogenik. .

BAB II

TUJUAN DAN MANFAAT PENELITIAN

2.1. Tujuan Penelitian

2.1.1. Tujuan Umum

Tujuan penelitian ini adalah untuk membuat produk obat herbal terstandar dari campuran temu kunci (*Kaempferia pandurata* Roxb) dan herba sambiloto (*Andrographis paniculata* Nees) sebagai obat kemopreventif kanker

2.1.1. Tujuan Khusus

1. Melakukan standarisasi simplisia temu kunci (*Kaempferia pandurata* Roxb) dan herba sambiloto (*Andrographis paniculata* Nees).
2. Melakukan standarisasi ekstrak etanol temu kunci (*Kaempferia pandurata* Roxb) dan herba sambiloto (*Andrographis paniculata* Nees).
3. Melakukan uji toksisitas akut, sub akut, teratogenik, hepatotoksik dan teratogenik dari campuran ekstrak etanol temu kunci (*Kaempferia pandurata* Roxb) dan herba sambiloto (*Andrographis paniculata* Nees).
4. Melakukan uji aktivitas kemopreventif ekstraksi etanol simplisia temu kunci (*Kaempferia pandurata* Roxb) dan herba sambiloto (*Andrographis paniculata* Nees).

2.2. Manfaat Penelitian

Manfaat dari penelitian ini adalah memberikan landasan ilmiah tentang pengembangan produk bahan obat yang berasal dari tanaman khususnya yang berasal dari rimpang temu kunci (*Kaempferia pandurata* Roxb) dengan senyawa marker pinostrobin dan herba sambiloto (*Andrographis paniculata* Nees) dengan senyawa marker andrografolida, sehingga akan diperoleh sediaan obat herbal terstandar untuk preventif kanker yang potensial, aman dan akhirnya dapat digunakan untuk pengobatan / pencegahan kanker di dalam pelayanan kesehatan formal.

BAB II.

STUDI PUSTAKA

2.1 Tinjauan Tentang Sambiloto (*Andrographis paniculata* Nees)

Klasifikasi *Andrographis paniculata* Nees (Backer and Bakhuizen, 1965)

Divisi	: Spermatophyta
Anak Divisi	: Angiospermae
Kelas	: Dicotyledoneae
Bangsa	: Solanales
Suku	: Acanthaceae
Marga	: <i>Andrographis</i>
Jenis	: <i>Andrographis paniculata</i> Nees

2. 1.2 Sinonim (Wijayakusuma, dkk., 1996)

- *Justicia paniculata* Burm
- *Justicia latebrosa* Russ
- *Justicia stricta* Lam



Gambar 2.1 Tanaman sambiloto (*Andrographis paniculata* Nees)

2.1.3 Nama Daerah *Andrographis paniculata* Nees

Pada beberapa daerah di Indonesia *Andrographis paniculata* Nees dikenal dengan beberapa macam nama :

- Sumatera : papaitan
- Sunda : ki oray, ki peurat, ki ular, takilo
- Maluku : sambroto (Wijayakusuma, dkk., 1996; Anonim, 1979)

2.1.4 Morfologi *Andrographis paniculata* Nees

Habitus tanaman adalah tema semusim yang masuk jeruju-jerujuan ini tumbuh liar di tempat-tempat terbuka seperti pinggir jalan, di ladang, tanah kosong yang tanahnya agak lembab, atau ditanam di pekarangan sebagai tanaman obat. Tanaman ini mudah menjadi banyak dan terdapat di dataran rendah sampai 700 meter di atas permukaan laut. Tinggi sekitar 40-90 cm. Batangnya persegi empat dan nodus yang membesar, banyak bercabang. Daun berbentuk lanset, ujung daun dan pangkal daun tajam atau agak tajam, tepi daun rata, panjang daun 3 cm sampai 12 cm dan lebar 1 cm sampai 3 cm, panjang tangkai daun 5 mm sampai 25 mm, daun bagian atas bentuknya seperti daun pelindung (Anonim, 1979)

Bunga adalah bunga majemuk, bentuk tandan di ketiak daun dan ujung batang, kelopak lanset, berbagi lima, pangkal berlekatan, hijau, benang sari dua, bulat panjang. Kepala sari bulat, ungu, putik pendek, kepala putik ungu kecoklatan, mahkota lonjong, pangkal berlekatan ujung pecah menjadi empat, bagian dalam putih bernoda ungu, bagian luar berambut, merah (Wijayakusuma dkk., 1996).

Buah berbentuk memanjang sampai jorong dengan panjang sekitar 1,5 cm dan lebar 0,5 cm, pangkal dan ujungnya tajam, bila masak akan pecah membujur menjadi 4 keping . Biji

bentuk gepeng kecil, berwarna coklat muda, mudah diperbanyak dengan biji (Wijayakusuma dkk., 1996).

2.1.5 Kandungan *Andrographis paniculata* Nees

Herba sambilloto (*Andrographis paniculata* Nees) mengandung senyawa diterpen lakton yang berasa pahit, diantaranya adalah andrografolida dan turunannya, antara lain neoandrografolida, deoksiandrografolida, 14-epi-andrografolida, isoandrografolida, 14-deoksiandrografolida, 14-deoksi-12-metoksiandrografolida, 12-epi-14-metoksiandrografolida, 14-deoksi-11, 12-didehidroksiandrografolida, andrografisida, 6-asetoandrografolida, bisandrografolida A, B, C dan D, 14-deoksi-11-hidroksiandrografolida, dan homoandrografolida. Panikolin, andrografen, polimetoksiflavon, mono-o-metilwightin, apigenin-7,4'-dimetileter panikulata merupakan flavonoid yang paling banyak terdapat di akar. Selain itu juga mengandung keton, aldehyd, flavonoid, garam-garam mineral seperti Na, K, Ca, asam kersik, damar, dan karnelgin. (Chang, 1987 ; Matsuda *et al.*, 1994).

Andrografolida merupakan kristal lempeng berbentuk segiempat yang mempunyai titik leleh 230^o-239^oC; berat molekul 350 ; tidak larut dalam air tetapi larut dalam aseton, metanol dan CHCl₃. Kadar andrografolida dalam simplisia 2,5% ± 0,04% (Ekasari, 1998). Kadar andrografolida bila dikonsumsi dalam 48 jam terakumulasi pada otak 20,9%; limfa 14,9%; jantung 11,1%; paru-paru 10,9%; rectum 8,6%; ginjal 7,9%; hati 5,6%; uterus 5,1%; ovarium 5,1% dan usus halus 3,2% ([http:// altcancer.silvermedicine.org](http://altcancer.silvermedicine.org)).

2.1.6 Kegunaan *Andrographis paniculata* Nees

Tanaman ini dapat digunakan sebagai obat radang tonsil, borok terkena racun jamur, racun singkong, racun udang, kurap, kudis, sakit perut, tifus, demam, gatal-gatal, digigit serangga, digigit ular berbisa, kencing manis, radang telinga, eksema, radang usus buntu,

masuk angin, luka bakar, trakoma, difteri, kencing nanah, raja singa, penurunan tekanan darah, keputihan, penambah nafsu makan, obat maag, obat disentri, anti diare, anti disentri, antipiretik, antiinflamasi, tukak lambung, imunomodulator, hepatitis, infeksi saluran empedu, TBC paru, antibakteri, antimalaria, hepatoprotektor, antifertilitas, tumor paru, dan antikanker (Chang, 1987; Matsuda *et al.*, 1994).

2.2. Tinjauan tentang tanaman temu kunci (*Kaempferia pandurata* Roxb).

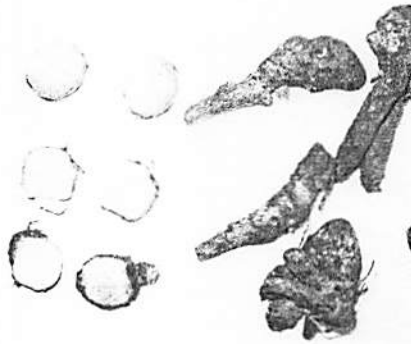
2.2.1 Klasifikasi tanaman temu kunci (*Kaempferia pandurata* Roxb)

Divisi	: Spermatophyta
Sub divisi	: Angiospermae
Klas	: Monocotyledonae
Bangsa	: Zingiberales
Suku	: Zingiberaceae
Marga	: <i>Kaempferia</i>
Jenis	: <i>Kaempferia pandurata</i> Roxb

Gastrochilus pandurata (Roxb) Rild (Heyne, 1987)

2.2.2 Nama daerah

Tanaman temu kunci tersebar di seluruh Indonesia dan dikenal dengan berbagai nama daerah, antara lain : temu kunci (Melayu), temu kunci (Minangkabau), temu kunci (Sunda), kunci (Jawa), temu konce (Madura), temu konci (Nusa Tenggara, Bali, Maluku, Sulawesi) (Heyne, 1987)



Gambar 2.2 Rimpang temu kunci (*Kaempferia pandurata* Roxb)

2.2.3 Deskripsi tanaman temu kunci (*Kaempferia pandurata* Roxb)

Tumbuhan semak, kecil, tingginya ± 30 cm, berbatang semu terdiri dari kelopak-kelopak daun yang berpadu. Rimpangnya tumbuh mendatar berjumpang-jumpang dan beruas, warnanya kuning. Akarnya tebal, berair, gemuk, bentuknya seperti cacing. Daunnya tidak banyak 4-5 lembar pada batang, panjang 23-30 cm dan lebar 4,5-10 cm, berpasangan, agak tegak, bentuk bundar, menjorok ke ujung dan ke pangkal. Telapak dan punggung daun licin, tidak berbulu dan berwarna hijau. Tulang daun ditengah, agak besar, mempunyai lapis tipis seakan-akan tembus cahaya, dipermukaannya bersisik pendek meruncing. Bunga banyak pada tandannya, muncul disela-sela pelindung daun bunga yang bentuknya lonjong, bundar seperti berpita-pita, panjang bunganya 5 cm. Kelopak bunga terbelah 2 panjangnya 2,5 cm, bentuk tabung kecil, lembarannya tipis seakan-akan tembus cahaya. Mahkota bunga panjangnya ± 5 cm, warnanya putih atau merah jambu dan berbentuk tabung. Lembaran mahkota bunga berwarna merah jambu, bentuknya lonjong, panjangnya ± 2 cm dan ujungnya runcing (Heyne, 1987).

2.2.4 Kandungan tanaman temu kunci

Kandungan kimia dari *Kaempferia pandurata* Roxb adalah 5, 7 – dimetoksi flavanon; 5 – hidroksi – 7 – metoksi flavon; 5 – hidroksi – 7, 4' dimetoksi flavon; 5-7-dimetoksi flavon; 5,7,4'-trimetoksi flavon; 5,7,3',4' tetrametoksi flavon; 5-hidroksi - 3, 7 - dimetoksi flavon; 5 – hidroksi – 3, 7, 4' -trimetoksi flavon; 3, 5, 7 trimetoksi flavon; 5 - hidroksi - 3, 7, 3', 4' – tetrametoksi flavon; pinostrobin; pinocembrin; 2', 6' – dihidroksi – 4 – metoksi kalkon, boesenbergin – A; rubranin; panduratin; kaempferol – 3, 7, 4' – trimetil eter; quersetin -3, 7, 3', 4' – tetrametil eter, kamfer, kamfen, sineol, geraniol, metilsinamat (Heyne, 1987 ; Trakoontivakorn *et al.*1999).

2.2.5 Kegunaan atau khasiat tanaman temu kunci

Tanaman ini digunakan selain untuk bumbu sayur-sayuran, sebagai obat tradisional digunakan untuk obat batuk kering, sariawan, gangguan pada usus besar, popok perut membengkak, susah kencing pada anak-anak, radang selaput lendir pada mulut rahim dan disentri (Heyne, 1987). Berdasarkan penelitian terbaru pinostrobin dapat dipergunakan sebagai senyawa antioksidan (Rapta *et al.*, 1995) dan relaksasi otot polos (Mata *et al.*, 1997).

2.3. Kontrol Pertumbuhan pada Sel Normal

Pertumbuhan dan maturasi sel adalah suatu proses yang normal walaupun dalam fase pertumbuhan organ selama embriogenesis, pertumbuhan, dan perbaikan jaringan dan perbaikan setelah terjadi luka. Gangguan regulasi dari proses tersebut dapat menyebabkan hilangnya kontrol atas pertumbuhan sel, differensiasi, dan batas antar ruang atau membran sel (Mc Phee *et al.*, 1995).

Sel-sel tertentu tumbuh dan bereproduksi setiap waktu, seperti sel-sel pembentuk darah dari sumsum tulang, lapisan germinativum kulit dan epitel usus. Akan tetapi, banyak sel lain, seperti sel otot polos, mungkin tidak memproduksi selama bertahun-tahun. Beberapa sel, seperti neuron dan sebagian besar sel otot lurik, tidak memproduksi disepanjang kehidupan seseorang, kecuali selama kehidupan fetus.

Pada beberapa jaringan, insufisiensi dari beberapa sel menyebabkan sel-sel ini tumbuh dan memproduksi dengan cepat sampai jumlah sel yang sesuai tersedia kembali. Contoh pada sel-sel hati, sel kelenjar, sel sumsum tulang, jaringan subkutan, epitel intestinal dan hampir jaringan apapun kecuali sel yang berdiferensiasi baik, seperti sel saraf dan sel otot.

2.3.1 Cara pengendalian pertumbuhan :

Pertama pertumbuhan dikendalikan oleh faktor-faktor pertumbuhan yang berasal dari bagian tubuh lain, bisa melalui sirkulasi darah maupun dari jaringan yang berdekatan. Kedua yaitu sebagian besar sel akan berhenti tumbuh bila sel kehabisan ruangan untuk tumbuh. Ketiga sel yang tumbuh dalam kultur jaringan sering berhenti tumbuh bila sejumlah kecil sekret sel sendiri terkumpul dalam media kultur (Guyton&Hall, 1997).

2.3.2. Tahapan siklus sel secara umum.

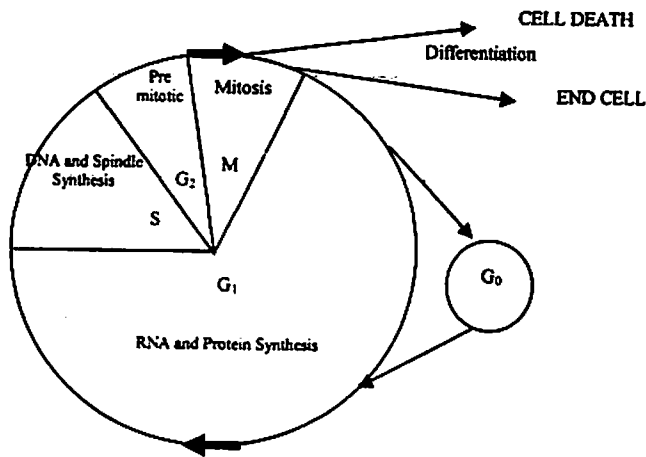
Fase M dimana pada fase ini terjadi aktivitas sintesis protein spindel, termasuk didalamnya proses mitosis yang terdiri dari profase, metafase, anafase dan telofase dengan durasi waktu kurang lebih 1 jam untuk sel basal membran kulit. Terjadi pula mekanisme *cell death* dan *end cell*. *Cell death* atau kematian sel merupakan proses yang terorganisir untuk mengatasi proses yang tidak perlu dalam fungsi metabolisme, misalnya pada keadaan luka karakteristik sel berubah menuju kematian atau bahkan fagositosis. Apoptosis merupakan

komponen normal dan penting dengan mekanisme sama untuk mengatur kelangsungan hidup sel atau populasi jaringan.

Fase G_0 dimana pada fase ini merupakan fase istirahat dari semua aktivitas mitotik, meskipun masih melakukan metabolisme normal. Begitu juga dengan mekanisme perbaikan DNA, bila perlu akan diaktifkan selama fase ini berlangsung. Durasi waktu fase ini sangat bervariasi untuk masing-masing sel.

Fase G_1 dimana pada fase ini terjadi aktivitas sintesis RNA dan protein dengan durasi waktu 480 jam untuk sel basal membran kulit. Biasanya waktu fase ini memanjang pada keadaan tumor. Jadi ada konsep yang salah neoplasma adalah pembelahan sel yang cepat karena tidak ada hubungan yang konsisten antara waktu siklus sel dan malignansi.

Fase S dimana pada fase ini terjadi aktivitas sintesis DNA untuk persiapan replikasi berikutnya. Durasi waktu sekitar 16 jam untuk sel basal membran kulit. Fase G_2 dimana pada fase ini terjadi aktivitas sintesis nukleoprotein. Durasi waktunya kurang lebih 8 jam untuk sel basal membran kulit (Greens., 2000).



Gambar 2.3 Siklus sel

BAB III

METODE PENELITIAN

1. Bahan

Bahan rimpang temu kunci (*Kaempferia pandurata*) dan sambiloto (*Andrographis paniculata* Nees) akan dikumpulkan dari Mojokerto, Jawa Timur. Bahan kimia yang digunakan pada penelitian ini berderajat pro analisa kecuali metanol. Bahan kimia dapat dilihat pada rincian anggaran bahan kimia.

2. Alat

Maserator, rotavapour, water bath inkubator, sentrifuse, mikroskop biasa dan flouresent, HPLC, spektrofotometer: UV, FTIR, NMR, MS dan densitometer

3. Tahapan Penelitian

3.1. Standarisasi simplisia

a. Standarisasi simplisia temu dan sambiloto digunakan metode Materia Medika Indonesia, Dep Kes RI yang meliputi pengamatan makroskopis dan mikroskopis simplisia, penetapan kadar abu, penetapan kadar abu tidak larut asam, kadar abu larut air, kadar sari larut air, penetapan kadar sari larut dalam etanol, penetapan kadar air, penetapan susut pengeringan.

b. Penetapan kadar senyawa marker pinostrobin dari simplisia temu kunci dan andrografolida dari herba sambiloto (*Andrographis paniculata* Nees). Metode penetapan kadar dilakukan dengan metode KLT- densitometri, untuk memperoleh data pengukuran yang valid maka perlu dilakukan: (1) penentuan selektifitas pelarut (2) Penentuan panjang gelombang maksimum (3) Linieritas (4) Homogenitas (5) Penentuan batas deteksi (LOD) batas kuantitasi (LOQ) (6) Akurasi dan (7) Presisi.

c. Pengukuran cemaran pestisida, pengukuran residu pelarut, penentuan cemaran aflatoksin dilakukan dengan metode HPLC, pengukuran cemaran logam berat dilakukan dengan metode AAS, sedangkan untuk cemaran mikroba ditentukan dengan metode mikrobiologi.

3. 2. Ekstraksi dan standarisasi campuran ekstrak

a. Ekstraksi Serbuk Temu Kunci dan Sambiloto

Serbuk kering bahan simplisia diekstraksi dengan etanol (96%) dengan metode maserasi, secara terpisah. Ekstrak etanol cair diuapkan dengan evaporator sampai diperoleh ekstrak kental. Sehingga diperoleh ekstrak etanol kunyit, dan ekstrak etanol sambiloto.

b. Standarisasi campuran ekstrak temu kunci dan sambiloto.

Campuran antara ekstrak temu kunci dan sambiloto dibuat perbandingan 1:1 dan diaduk rata, kemudian dilakukan standarisasi dengan metode Pedoman Umum Standart Ekstrak, DepKes RI, yang meliputi: pengamatan organoleptis, penetapan kadar abu, penetapan kadar abu tidak larut asam, kadar abu larut air, kadar sari larut air, penetapan kadar sari larut dalam etanol, penetapan kadar air, penetapan susut pengeringan.

Penetapan kadar senyawa marker pinostrobin dari simplisia rimpang temu kunci dan andrografolida dari herba sambiloto (*Andrographis paniculata* Nees) dalam campuran ekstrak kunyit dan sambiloto. Metode penetapan kadar dilakukan dengan metode KLT- densitometri, untuk memperoleh data pengukuran yang valid maka perlu dilakukan: (1) penentuan selektifitas pelarut (2) Penentuan panjang gelombang maksimum (3) Linieritas (4) Homogenitas (5) Penentuan batas deteksi (LOD) batas kuantitasi (LOQ) (6) Akurasi dan (7) Presisi.

c. Pengukuran cemaran pestisida, pengukuran residu pelarut, penentuan cemaran aflatoksin dilakukan dengan metode HPLC, pengukuran cemaran logam berat dilakukan dengan metode AAS, sedangkan untuk cemaran mikroba ditentukan dengan metode mikrobiologi.

3.3. Pengujian toksisitas produk fitofarmaka, meliputi:

a. Uji toksitas akut (LD_{50}).

Digunakan 4 kelompok percobaan dan tiap kelompok digunakan 10 ekor mencit betina, kemudian diberikan secara peroral sediaan andrografolid dalam CMC-Na dengan dosis awal yang digunakan relatif tidak berbahaya, kemudian diamati jumlah mencit yang mati. Dari hasil tersebut dosis dinaik / turunkan untuk mendapatkan dosis yang membunuh mencit kurang dari 50% tetapi tidak 0%, dan membunuh lebih dari 50% tetapi tidak 100% (Gosh,1971). Pengamatan tanda-tanda keracunan dilakukan 4 jam setelah pemberian bahan uji dan total

jumlah hewan yang mati, diamati dalam waktu 24 jam setelah pemberian bahan uji. Analisis data yang diperoleh dalam penelitian ini diolah dengan *Probit Analysis*, untuk menentukan harga LD₅₀.

b. Uji toksitas sub-akut., dengan pengamatan efek pemberian dosis sehari satu kali pada hewan coba tikus selama waktu 3 bulan terhadap data darah lengkap (Hb, SGOT, SGPT, Ureum dan Kreatinin, dll) dan histopatologi organ penting (GIT, hepar, jantung, ginjal, pankreas).

c. Uji teratogenik

Pertama dilakukan perkawinan dari mencit betina dan mencit jantan dengan perbandingan : 4 betina dan 1 jantan. Setelah 24 jam diamati sumbat kopulasi, yaitu sumbat kekuningan pada vagina yang merupakan sekret vesikula seminalis betina dengan ejakulat jantan yang mengeras. Adanya sumbat kopulasi pada vagina dihitung sebagai kehamilan hari ke-0.

Sebanyak 40 ekor mencit hamil dikelompokkan masing-masing 10 ekor. Perlakuan yang diberikan adalah kelompok I diberi kontrol negatif. Kelompok II diberi dosis lazim, kelompok III diberi dosis : 3 x dosis lazim, dan kelompok IV diberi dosis : 5 x dosis lazim . Bahan uji diberikan secara peroral sebanyak 1 ml setiap hari dan dimulai pada kehamilan hari ke-6 sampai ke 15 (fase organogenesis).

Pembedahan kandungan dilakukan dengan cara anastesi, untuk mengeluarkan pada hari ke-18 kehamilan. Selanjutnya terhadap janin dilakukan pengamatan: jumlah seluruh janin, jumlah janin mati, jumlah tempat implantasi, berat janin dan kelainan fisik pada organ kepala, organ eksteremitas dan jari-jari, perut, punggung serta ekor janin. Analisis data yang diperoleh dalam penelitian ini diolah dengan ANAVA.

3.4. Pengujian aktivitas kemopreventif antikanker

Mencit jantan sebanyak 40 ekor yang mengalami proses adaptasi penelitian, dikelompokkan secara acak menjadi 4 kelompok. Kelompok I adalah kontrol negatif, hanya diberikan CMC-Na; kelompok II diberikan dosis campuran ekstrak 80mg/kgBB, kelompok III diberikan campuran ekstrak dosis 100 mg/kgBB, kelompok IV diberikan campuran ekstrak dosis 120 mg/kgBB; dengan frekuensi tiap hari sekali selama satu bulan bersama-sama dengan diberikan induksi benzo(a)pirena sebanyak 0,3mg / 0,2ml dalam oleum olivarum yang

diberikan subkutan pada daerah scapular sebanyak lima kali tiap dua hari sekali. Selanjutnya seluruh mencit dipelihara dalam suasana dan diet yang sama selama dua sampai tiga bulan.

Pengamatan makroskopis pertumbuhan kanker pada mencit dilakukan setiap hari selama dua bulan. Sedangkan parameter keberhasilan dari penelitian ini adalah benjolan kanker pada daerah tengkuk dan gambaran mikroskopik berupa irisan histopatologi.

Aktivitas efek kemopreventif dengan cara menentukan persentasi tingkat kejadian kanker, dengan menggunakan rumus sebagai berikut :

$$\text{Persentasi tingkat kejadian kanker : } \frac{\text{Jumlah mencit kena kanker}}{\text{Jumlah mencit dalam kelompok uji}} \times 100\%$$

BAB IV
HASIL PENELITIAN

4.1 Hasil Penentuan Standarisasi Simplisia Sambiloto

4.1.1 Uji Organoleptis Simplisia

- Bentuk : serbuk kasar
- Warna : hijau putih
- Bau : tidak berbau
- Rasa : pahit



Gambar 4.1 Simplisia kering sambiloto

Gambar 4.2 Serbuk simplisia sambiloto

4.1.2 Uji Makroskopis Simplisia

Hasil pengamatan uji makroskopis simplisia tertera pada tabel 4.1 dibawah ini:

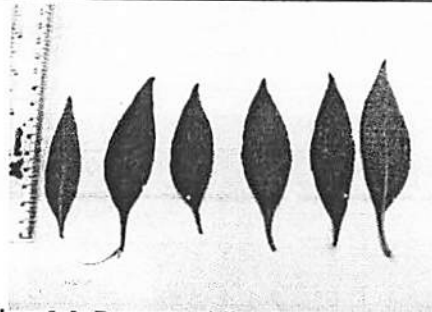
Tabel 4.1 Uji makroskopis simplisia herba sambiloto (*Andrographis paniculata* Nees.)

No.	Uraian	Hasil Pengamatan
1.	Daun	
	Bentuk :	Lanset dengan duduk daun bersilang berhadapan
	Helaian daun :	
	Bentuk	Lanset
	Ujung daun	Tajam/meruncing
	Pangkal daun	Agak tajam/agak meruncing
	Permukaan daun	Agak kasar
	Tepi daun	Rata
	Tulang daun	Menyirip
	Ukuran daun :	
	Panjang daun	3 - 15 cm

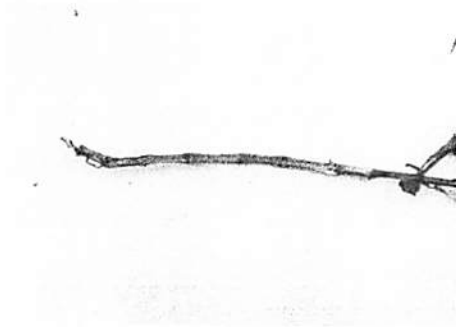
	Lebar daun Tangkai daun	1,5 - 4 cm 0,5 - 2,5 cm
2.	Batang Bentuk : Warna : Bergetah/tidak : Percabangan :	Segiempat, tidak berambut dengan sudut agak berusuk Permukaan luar : hijau ; permukaan dalam : putih Tidak bergetah dan tidak berair Banyak dan letaknya berlawanan
3.	Bunga Kelopak bunga : Daun mahkota :	5 helai daun kelopak, panjang 3-4 mm, berambut Berbibir tabung, panjang 5-6 mm, permukaan atas dan bawah berwarna putih
4.	Buah Bentuk : Ukuran : Warna :	Jorong dengan ujung tajam dan bagian tengahnya beralur Panjang 2 cm Hijau, coklat sampai kehitaman
5.	Biji Bentuk : Ukuran : Warna :	Kecil, tidak beraturan dengan permukaan keras Panjang = 1,5 - 3 mm; lebar = 2 mm Coklat muda bertonjol-tonjol



Gambar 4.3. Herba sambiloto



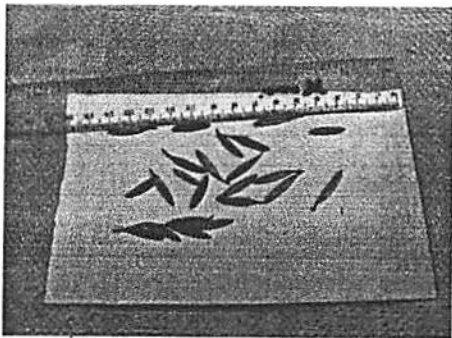
Gambar 4.4. Daun sambiloto



Gambar 4.5. Batang sambiloto



Gambar 4.6. Percabangan sambiloto



Gambar 4.7. Buah sambiloto



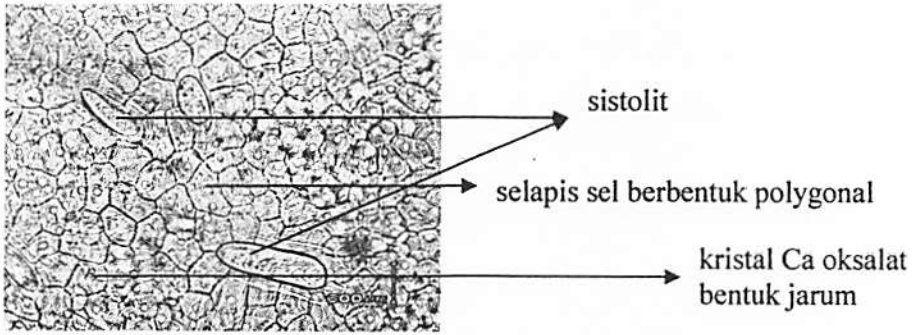
Gambar 4.8. Bunga sambiloto

4.1.3 Uji Mikroskopis Simplisia

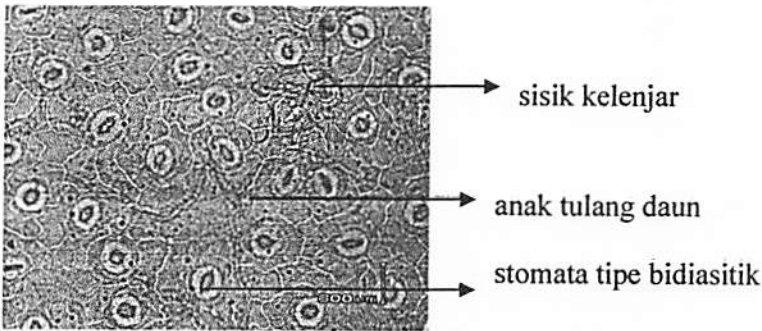
Hasil pengamatan uji mikroskopis simplisia tertera pada tabel 4.2 dibawah ini :

Tabel 4.2. Irisan melintang daun

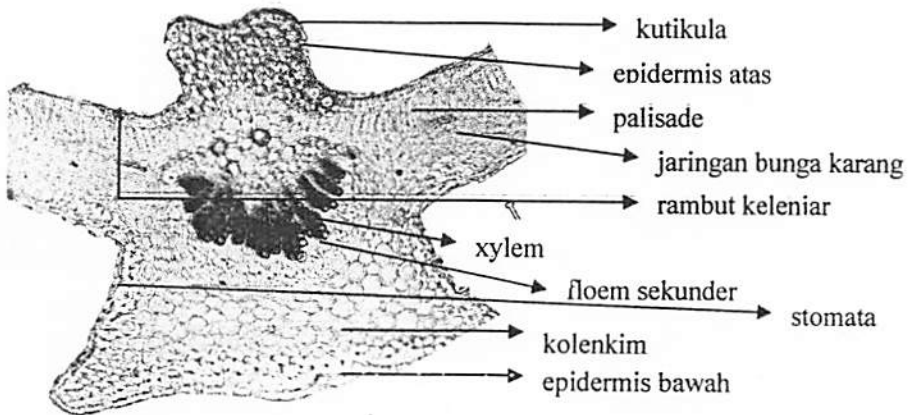
No.	Susunan	Uraian
1.	Epidermis atas	Terdiri atas satu lapis sel berbentuk poligonal, tidak terdapat stomata, terdapat sistolit berbentuk jorong, dan banyak terdapat rambut kelenjar.
2.	Epidermis bawah	Banyak terdapat stomata tipe bidiasitik, lebih banyak terdapat rambut kelenjar dan litosis. Terdapat berkas pembuluh tipe bikolateral.
3.	Mesofil	Terdiri atas satu lapis sel.



Gambar 4.9. Epidermis atas daun sambiloto



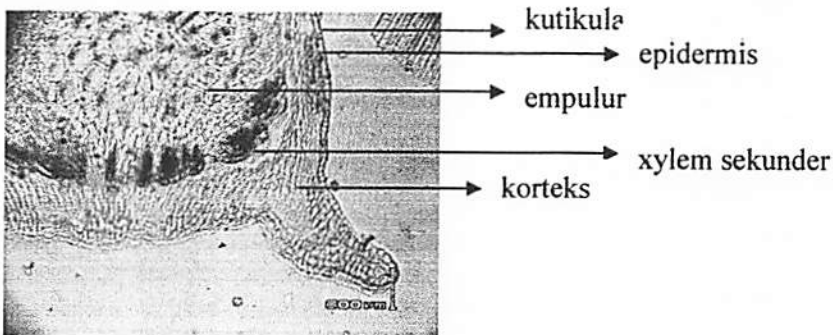
Gambar 4.10. Epidermis bawah daun sambiloto



Gambar 4.9 Irisan melintang daun sambiloto

Tabel 4.3. Irisan melintang batang

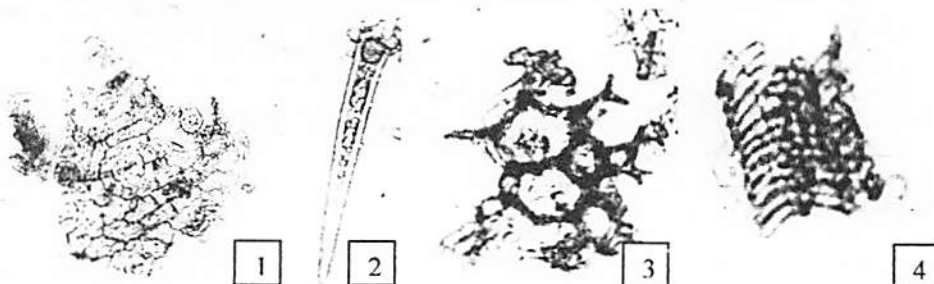
No.	Susunan	Uraian
1.	Epidermis	Terdiri atas selapis sel berbentuk persegi panjang, rambut kelenjar dan litosis
2.	Korteks	Terdiri dari beberapa lapis sel
3.	Floem sekunder	Sedikit
4.	Xylem sekunder	Sebagian besar terdiri dari serabut kayu, pembuluh kayu bernoktah dan yang berpennebalan tangga tersebar
5.	Empulur	Terdiri atas sel besar berbentuk poligonal, dinding bernoktah, sel empulur berisi hablur Ca oksalat bentuk jarum

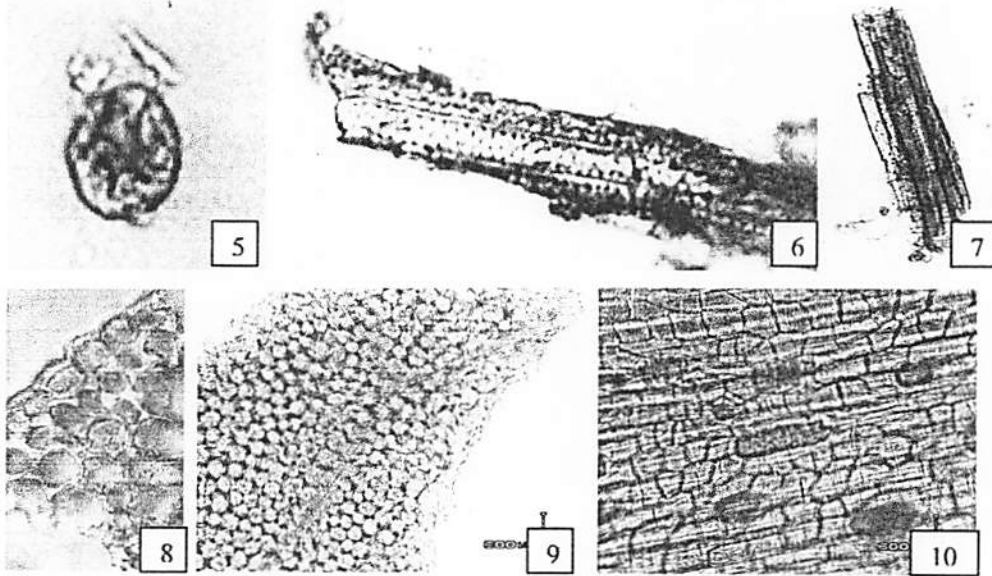


Gambar 4.10. Irisan melintang batang

4.1.4 Identifikasi Serbuk Simplisia

Hasil pengamatan fragmen serbuk herba sambiloto diperoleh antara lain :





Gambar 4.11. Uji mikroskopis serbuk sambiloto

Keterangan gambar :

- | | |
|--|--|
| <ol style="list-style-type: none"> 1. Epidermis bawah dengan stomata dan sisik kelenjar 2. Rambut penutup 3. Kolenkim 4. Xylem sekunder dengan penebalan tangga 5. Sisik kelenjar | <ol style="list-style-type: none"> 6. Xylem sekunder dengan penebalan noktah 7. Xylem+ floroglusin HCl → ungu 8. Kutikula, epidermis atas dan mesofil daun 9. Mesofil dengan costa daun 10. Sistolit dalam sel epidermis atas |
|--|--|

4.2. Parameter Non Spesifik Simplisia

4.2.1. Penetapan Kadar Abu

Tabel 4.4 Hasil penetapan kadar abu pada serbuk simplisia herba sambiloto

No	Berat simplisia (g)	berat abu (g)	% abu (b/b)
1.	2,0023	0,2221	11,09
2.	2,0025	0,225	11,24
3.	2,0006	0,2239	11,19
Rata-rata			11,17
Standar deviasi			0,2864
Koefisien variasi			0,68
Persyaratan kadar*			< 12 (memenuhi)
Ket. (*) : pustaka Materia Medika Indonesia jilid III			

4.2.2. Penetapan Kadar Abu Larut Air

Tabel 4.5 Hasil penetapan kadar abu yang larut air pada serbuk simplisia herba sambiloto

No	Berat simplisia (g)	berat abu (g)	abu larut air (g)	% abu larut air (b/b)
1.	2,0009	0,2329	0,0907	4,53
2.	2,0031	0,2345	0,0937	4,68
3.	2,0016	0,2344	0,0868	4,38
Rata-rata				4,52
Standar deviasi				0,1391
Koefisien variasi				3,08
Persyaratan kadar				-

4.2.3. Penetapan Kadar Abu Tidak Larut Asam

Tabel 4.6 Hasil penetapan kadar abu yang tidak larut asam pada serbuk simplisia herba sambiloto

No	Berat simplisia (g)	berat abu (g)	abu tidak larut asam (g)	% abu tidak larut asam (b/b)
1.	2,0112	0,2363	0,0181	0,90
2.	2,0114	0,2287	0,0149	0,74
3.	2,0141	0,2035	0,0154	0,76
Rata-rata				0,80
Standar deviasi				0,0872
Koefisien variasi				10,90
Persyaratan kadar*				< 2,2 (memenuhi)
Ket. (*) : pustaka Materia Medika Indonesia jilid III				

4.2.4. Penetapan Kadar Sari Larut Etanol

Tabel 4.7 Hasil penetapan kadar sari larut etanol pada serbuk simplisia herba sambiloto

No	Berat simplisia (g)	berat residu (g)	% sari larut etanol (b/b)
1.	5,0013	0,629	12,6
2.	5,0001	0,619	12,4
3.	5,0005	0,620	12,4
Rata-rata			12,47
Standar deviasi			0,1155
Koefisien variasi			0,93
Persyaratan kadar*			> 9,7 (memenuhi)
Ket. (*) : pustaka Materia Medika Indonesia jilid III			

4.2.5. Penetapan Kadar Sari Larut Air

Tabel 4.8 Hasil penetapan kadar sari larut air pada serbuk simplisia herba sambilloto

No	Berat simplisia (g)	berat residu (g)	% sari larut air (b/b)
1.	5,0071	0,925	18,47
2.	5,0070	0,905	18,07
3.	5,0084	0,922	18,40
Rata-rata			18,31
Standar deviasi			0,2136
Koefisien variasi			1,17
Persyaratan kadar*			> 18 (memenuhi)
Ket. (*) : pustaka Materia Medika Indonesia jilid III			

4.2.6. Penetapan Susut Pengeringan

Tabel 4.9 Hasil penetapan susut pengeringan pada serbuk simplisia herba sambilloto

No	Berat simplisia (g)	Berat akhir (g)	% penyusutan (b/b)
1.	1,5021	1,3756	8,43
2.	1,5013	1,3768	8,29
3.	1,5041	1,3734	8,69
Rata-rata			8,47
Standar deviasi			0,1657
Koefisien variasi			1,96
Persyaratan kadar*			< 10 (memenuhi)
Ket. (*) : pustaka Standard of ASEAN Herbal Medicine, Volume I, tahun 1993			

4.2.7. Penetapan Kadar Air

Tabel 4.10 Hasil penetapan kadar air pada serbuk simplisia herba sambiloto

No	Berat simplisia (g)	Volume air (mL)	% kadar air (b/v)
1.	30	2,7	9
2.	30	2,6	8,67
3.	30	2,6	8,67
Rata-rata			8,78
Standar deviasi			0,1905
Koefisien variasi			2,17
Persyaratan kadar*			< 10 (memenuhi)
Ket. (*): pustaka Standard of ASEAN Herbal Medicine, Volume I, tahun 1993			

4.3 Parameter Non Spesifik Ekstrak

Hasil pembuatan ekstrak etanol herba sambiloto, seperti tertera pada tabel 5.11 dibawah ini.

Tabel 4.11 Pembuatan ekstrak etanol herba sambiloto

No	Uraian	Jumlah
1.	Jumlah simplisia yang dimaserasi	500 g
2.	Jumlah etanol 96% yang digunakan tiap kali maserasi	2 L
3.	Remaserasi residu	4x
4.	Jumlah ekstrak yang diperoleh	500 mL
5.	Berat ekstrak	457,5 g
6.	Jumlah pengering yang digunakan (5%) → 2,5% cab-o-sil 2,5% avicel	11,4375 g 11,4375 g
7.	Berat ekstrak kering yang diperoleh	85,3 g

4.3.1 Uji Organoleptis Ekstrak

- Bentuk : serbuk
 Warna : hijau
 Bau : tidak berbau
 Rasa : pahit



Gambar 4.14 Serbuk ekstrak sambiloto

4.3.2 Penetapan Susut Pengeringan Ekstrak

Tabel 4.12 Hasil penetapan susut pengeringan pada ekstrak etanol herba sambiloto

No	Berat ekstrak (g)	Berat akhir (g)	% penyusutan (b/b)
1.	1,0028	0,9585	4,42
2.	1,0029	0,9562	4,64
3.	1,0037	0,9558	4,77
Rata-rata			4,61
Standar deviasi			0,1769
Koefisien variasi			3,84
Persyaratan kadar*			< 10 (memenuhi)
Ket. (*) : pustaka Kriteria dan Tata Laksana Pendaftaran Obat Tradisional, Obat Herbal Terstandar dan Fitofarmaka BPOM RI 2005			

4.3.3 Penetapan Kadar Cemaran Logam Berat

▪ Penetapan kadar Cu

Tabel 4.13 Kurva baku penetapan kadar Cu

Konsentrasi (ppm)	Absorban
0,0994	0,002
0,1989	0,007
0,3978	0,018
0,5967	0,029
0,9944	0,054

$$y = 0,0581x - 4,5938 \cdot 10^{-3} \quad r = 0,9992 \quad r \text{ tabel} = 0,900 (\alpha = 0,05)$$

Tabel 4.14 Kadar Cu dalam larutan sampel

Replikasi ke	Absorban	Berat sampel	Kadar dalam 25 mL (ppm)	Kadar (mg/Kg)
1	0,029	10,0007	0,578	1,4449
2	0,029	10,0009	0,578	1,4449
3	0,031	10,0016	0,612	1,5298
Rata - rata		10,0011	0,589	1,4732
Standar deviasi		$4,726 \cdot 10^{-4}$	0,0196	0,049
Koefisien variasi (%)		0,0047	3,33	3,33
Persyaratan kadar*				150 (memenuhi)

Ket. (*) : pustaka Quality Control Methods for Medicinal Plants Materials, WHO 1998.

▪ Penetapan kadar Pb

Tabel 4.15 Kurva baku penetapan kadar Pb

Konsentrasi (ppm)	Absorban
1,00	0,004
2,00	0,006
5,00	0,024
8,00	0,045
10,00	0,055

$$y = 5,939.10^{-3} - 4,082.10^{-3} r = 0,9969 \quad r \text{ tabel} = 0,900 (\alpha = 0,05)$$

Tabel 4.16 Kadar Pb dalam larutan sampel

Replikasi ke	Berat sample (g)	Absorban	Kadar
1	10,0007	- 1,721	Tidak terdeteksi
2	10,0009	- 1,672	Tidak terdeteksi
3	10,0016	- 1,404	Tidak terdeteksi
Persyaratan kadar*			10 mg/Kg
Ket. (*) : pustaka Quality Control Methods for Medicinal Plants Materials, WHO 1998.			

▪ Penetapan kadar Cd

Tabel 4.17 Kurva baku penetapan kadar Cd

Konsentrasi (ppm)	Absorban
0,100	0,0173
0,490	0,0459
0,990	0,1089
1,980	0,1987
4,960	0,4378

$$y = 0,0866x + 0,0142 \quad r = 0,998 \quad r \text{ tabel} = 0,900 (\alpha = 0,05)$$

Karena $r \text{ hitung} > r \text{ tabel}$ maka ada korelasi yang linier

Tabel 4.18 Kadar Cu dalam larutan sampel

Replikasi ke	Berat sample (g)	Absorban	Kadar
1	10,0007	- 0,221	Tidak terdeteksi
2	10,0009	- 0,221	Tidak terdeteksi
3	10,0016	- 0,288	Tidak terdeteksi
Persyaratan kadar*			0,3 mg/Kg
Ket. (*) : pustaka Quality Control Methods for Medicinal Plants Materials, WHO 1998.			

▪ **Penetapan kadar logam berat As dan Hg**

Dilakukan di Laboratorium Kesehatan Surabaya. Hasil yang diperoleh yaitu seperti yang tertera dalam tabel 4.20 dibawah ini :

Logam berat	Kandungan dalam ekstrak sambiloto (ppm)	Persyaratan* (mg/Kg)
As	0,000	5
Hg	0,002	0,5

Ket. (*) : pustaka Quality Control Methods for Medicinal Plants Materials, WHO 1998.

Kadar Cu, Pb, Cd, As dan Hg memenuhi persyaratan yang berlaku, yaitu pada Quality Control Methods for Medicinal Plants Materials, WHO 1998.

4.3.4 Penetapan Kadar Cemaran Mikroba

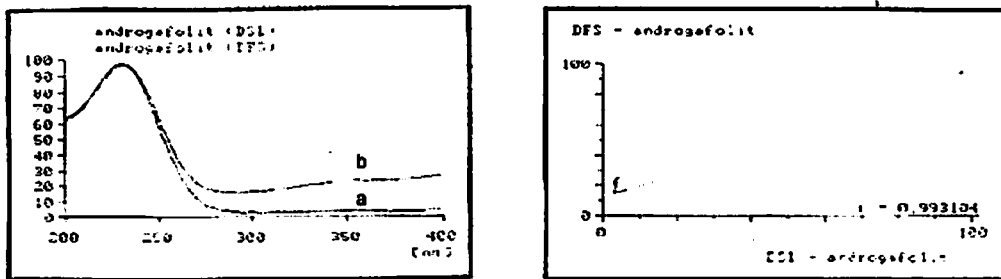
Tabel 4.20 Hasil uji penetapan kadar cemaran mikroba terhadap ekstrak etanol herba sambiloto

Kultur	Hasil
Angka Lempeng Total (ALT)	0 (nol)
ALT Kapang	0 (nol)
ALT Khamir	0 (nol)
Salmonella	Negatif
<i>Escherichia coli</i>	Negatif
<i>Staphylococcus aureus</i>	Negatif
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Negatif
<i>Aspergillus flavus</i>	Negatif

4.4 Penetapan Kadar Andrografolida dalam Simplisia dan Ekstrak

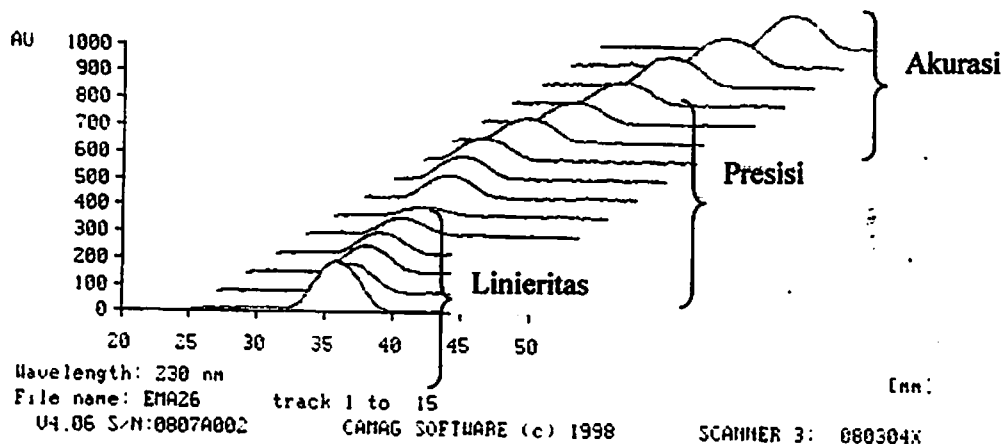
4.4.1 Penentuan Selektivitas Eluen

Hasil uji selektivitas mengacu pada hasil penelitian yang dilakukan oleh Kusumardhani, 2005. Adapun eluen yang diuji selektivitasnya diantaranya seperti yang tertera pada tabel 4.22.



Gambar 5.16 Perbandingan profil spektra andrografolida dalam sampel dan standar

4.4.3 Linieritas



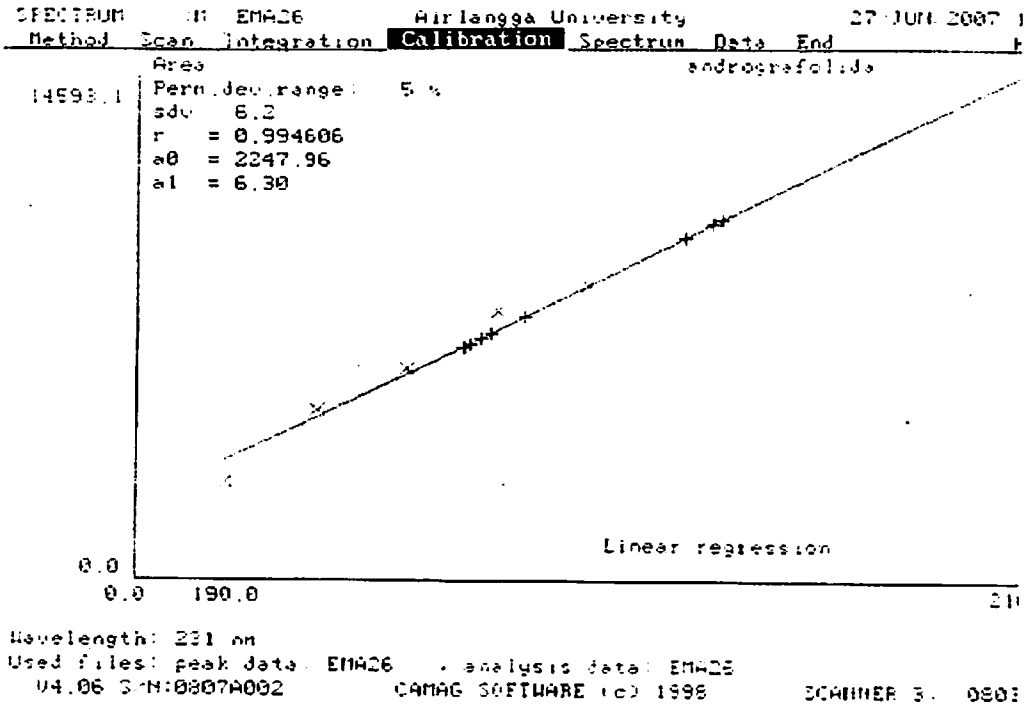
Gambar 4.17 Integrasi seluruh noda pada plat KLT untuk pengukuran linieritas, presisi dan akurasi

Tabel 4.22 Hasil pengukuran luas area untuk penentuan linearitas pada berbagai konsentrasi

Konsentrasi standar andrografolida (ppm)	Jumlah penotolan (μg)	Area noda (Y_0)	Y_1	$(Y_1 - Y_0)^2$
202	0,40	2708,3	3507,6583	638973,6918
404	0,81	4173,9	4767,3707	352207,4718
606	1,21	7415,4	6027,0831	1927423,815
808	1,61	11052,7	7286,7955	14182036,7
1010	2,02	13780,0	8546,5079	27389439,56
2020	4,04	15707,4	14845,0699	743613,2014
$\Sigma (Y_1 - Y_0)^2$				1970730086

$$y = 6,2362x + 2247,9459 \quad r = 0,9946 \quad r \text{ tabel} = 0,943 (\alpha = 0,01)$$

Karena $r > r \text{ tabel}$, maka terdapat korelasi yang linier antara konsentrasi (x) dan area (y)



Gambar 4.18 Kurva hubungan antara kadar (ppm) dengan area noda dengan densitometer

4.4.4 Penentuan Batas Deteksi (LOD) dan Batas Kuantitasi (LOQ)

Dari hasil penentuan batas deteksi (LOD) dan batas kuantitasi (LOQ), diperoleh hasil seperti yang tercantum dalam tabel 4.23 di bawah ini :

Konsentrasi standar andrografolida (ppm)	Jumlah penotolan (μg)	Area noda	y_i	$(y_i - y_0)^2$
25	0,05	1342,8	1039,36	92075,8336
50	0,10	1296,2	1374,36	6108,9856
75	0,15	2709,1	1709,36	136707,6676
100	0,20	1874,8	2044,36	28750,5936
150	0,30	2235,3	2714,36	229498,4836
250	0,50	3809,9	4054,36	59760,6916
400	0,80	6357,7	6064,36	86048,3556

$\sum (y_i - y_o)^2$	638950,6112
----------------------	-------------

$$y = 13,4x + 704,36 \quad r = 0,983655 \quad r \text{ tabel} = 0,893 (\alpha = 0,01)$$

$$sd = \sqrt{\frac{\sum (y_i - y_o)^2}{n-2}} \rightarrow sd = \sqrt{\frac{638950,6112}{5}} \rightarrow 357,4774$$

$$LOD = \frac{3 \times sd}{slope} \rightarrow LOD = \frac{3 \times 357,4774}{13,4} \rightarrow LOD = 80,0323 \text{ ppm atau } 0,16 \mu\text{g}$$

$$LOQ = \frac{10 \times sd}{slope} \rightarrow LOQ = \frac{10 \times 357,4774}{13,4} \rightarrow LOQ = 266,7742 \text{ ppm atau } 0,53 \mu\text{g}$$

Batas deteksi dan batas kuantitasi andrografolida dari densitometer yang digunakan yaitu 0,16 μg dan 0,53 μg .

4.4.5 Akurasi

Tabel 4.24 Hasil pengukuran akurasi pada penetapan kadar andrografolida

Replikasi ke-	Penimbangan		Andrografolida dalam 5,0 ml (mg)	Kadar yang diperoleh (mg)	% recovery
	Sampel (mg)	Standar (mg)			
1	25,2	2,5	6,2578	6,1388	98,10
2	25,2	2,5	6,2578	6,4691	103,38
3	25,1	2,5	6,2429	6,5713	105,26
% recovery rata-rata					102,25
Koefisien variasi (%)					3,63

Persen recovery yang didapat masuk dalam rentang yang diperbolehkan yaitu 80 -120 % (USP XXIV dan Swarbrick, 1970).

4.4.6 Penetapan Kadar Andrografolida dalam Serbuk Simplisia

Ekstraksi menggunakan metode perkolasi hingga kandungan andrografolida habis, yang diuji dengan pengamatan secara visual setelah dipayar pada lampu UV.

Tabel 4.25 Hasil perkolasi serbuk simplisia herba sambiloto

No	Berat simplisia (g)	Pelarut pengembang (mL)	Pelarut perkolasi (mL)	Perkolat (mL)
1.	5,0020	15	130	143
2.	5,0011	15	145	157
3.	5,0016	15	150	150

Tabel 4.26 Pengukuran area noda pada penetapan kadar andrografolida pada simplisia

Konsentrasi standar (ppm)	Jumlah penotolan ($\mu\text{g}/\text{bercak}$)	Area
400	0,8	6839,8
600	1,2	9509,6
800	1,6	11198,0
1000	2,0	13031,1
2000	4,0	20759,3
3000	6,0	28766,8

 $y =$
8,19
 $x +$
4370
,35
 $r =$
0,99
8476

 $r \text{ tabel} = 0,943 (\alpha = 0,01)$
Tabel 4.27 Penetapan kadar andrografolida dalam serbuk simplisia

Berat simplisia (g)	Luas area noda	Kadar (mg/60mL)	Kadar (%)
5,0020	21433,5	125,0048	2,50
5,0011	24304,6	146,0341	2,92
5,0016	15840,8	84,0326	1,68
Kadar rata-rata			2,37
Standar deviasi			0,631
Koefisien variasi			26,65

Kadar andrografolida dalam serbuk simplisia herba sambiloto sebesar $(2,37 \pm 0,631)\%$ dengan koefisien variasi sebesar 26,65%.

- Penetapan Kadar Andrografolida pada Simplisia dengan Metode Ekstraksi Maserasi Kinetik

Tabel 4.28 Pengukuran area noda pada penetapan kadar andrografolida pada simplisia

Konsentrasi standar (ppm)	Jumlah penotolan ($\mu\text{g}/\text{bercak}$)	Area
400	0,8	6336,1
600	1,2	8551,0
800	1,6	8770,2
1000	2,0	9973,2
2000	4,0	17072,7
3000	6,0	21540,3

$y =$
 5,88
 $x +$
 4400
 ,04
 $r =$
 0,99
 47

$r \text{ tabel} = 0,943 (\alpha = 0,01)$

Tabel 5.29 Penetapan kadar andrografolida dalam serbuk simplisia

Berat simplisia (g)	Volume ekstrak (mL)	Luas area noda	Kadar dalam ekstrak (mg)	Kadar (%)
5,0064	106	11144,6	121,6403	2,43
5,0057	103	12561,6	143,0310	2,86
5,0040	111	11098,8	126,5145	2,53
Kadar rata-rata				2,61
Standar deviasi				0,224
Koefisien variasi				8,6

Kadar andrografolida dalam serbuk simplisia herba sambiloto sebesar $(2,37 \pm 0,631)\%$ dengan koefisien variasi sebesar 26,65%.

4.4.7 Penetapan Kadar Andrografolida dalam Ekstrak

Luas area standar andrografolida berbagai konsentrasi pada berbagai jumlah penotolan ditunjukkan pada tabel 5.25, dan hasil penetapan kadar andrografolida dalam ekstrak etanol 96% dari tanaman *Andrographis paniculata* Nees. ditunjukkan pada tabel 5.31 dibawah ini :

Tabel 4.30 Luas area standar andrografolida berbagai konsentrasi pada berbagai jumlah penotolan

Konsentrasi standar (ppm)	Jumlah penotolan ($\mu\text{g}/\text{bercak}$)	Area
202	0,40	2708,3
404	0,81	4173,9
606	1,21	7415,4
808	1,61	11052,7
1010	2,02	13780,0
2020	4,04	15707,4

$$y = 6,2362x + 2247,9459 \quad r = 0,9946 \quad r \text{ tabel} = 0,943 (\alpha = 0,01)$$

Karena $r \text{ hitung} > r \text{ tabel}$ maka ada korelasi yang linear

Tabel 4.31 Penetapan kadar andrografolida dalam ekstrak etanol 96% dari tanaman *Andrographis paniculata* Nees.

Sampel (mg)	Luas area	Kadar (mg/5mL)	Kadar (%)
25,3	6818,4	3,6644	14,48
25,2	6889,5	3,7214	14,76
25,3	6810,2	3,6579	14,46
25,3	7044,9	3,8460	15,20
253	7190,2	3,9625	15,66
Kadar rata-rata			14,91
Standar deviasi			0,514
Koefisien variasi			3,45

Kadar andrografolida rata-rata dalam ekstrak etanol 96% herba sambiloto ($14,91 \pm 0,514$)% dengan koefisien variasi sebesar 3,45%.

Kadar andrografolida rata-rata dalam ekstrak etanol 96% herba sambiloto ($14,91 \pm 0,514$)% dengan koefisien variasi sebesar 3,45%.

Tabel 4.32. Penetapan kadar andrografolida dalam ekstrak yang ditambah pengering *Andrographis paniculata* Nees.

Sampel (mg)	Luas area	Kadar (mg/10mL)	Kadar (%)
50,1	4265,46	784,67	7,83
50	3301,24	554,92	5,35
49,9	3959,95	711,88	7,13
Kadar rata-rata			6,48
Standar deviasi			1,17

Kadar andrografolida rata-rata dalam ekstrak dengan pengering sambiloto ($6,48 \pm 1,17$)%.

4.2. Hasil Penentuan Standarisasi Simplisia Temu Kunci

4.2.1 Uji Organoleptis Simplisia

Bentuk : serpihan , rajangan

Warna : putih kekuningan

Bau : aromatis

Rasa : pahit

4.2.1. Uji Makroskopis Simplisia

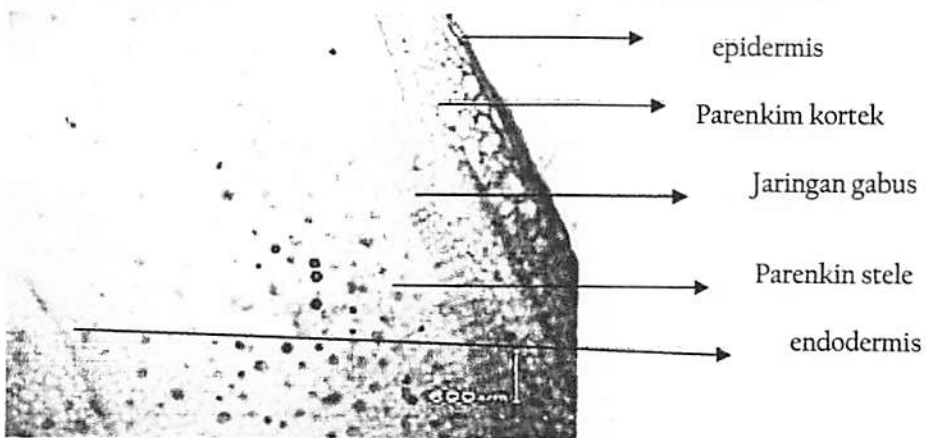
Hasil pengamatan secara makroskopis simplisia temu kunci , merupakan rimpang dengan bentuk irisan tipis berwarna kekuningan dan memiliki bau atau aroma yang khas atau aromatis.



Gambar 4.19. Simplisia temu kunci

4.2.3 Uji Mikroskopis Simplisia

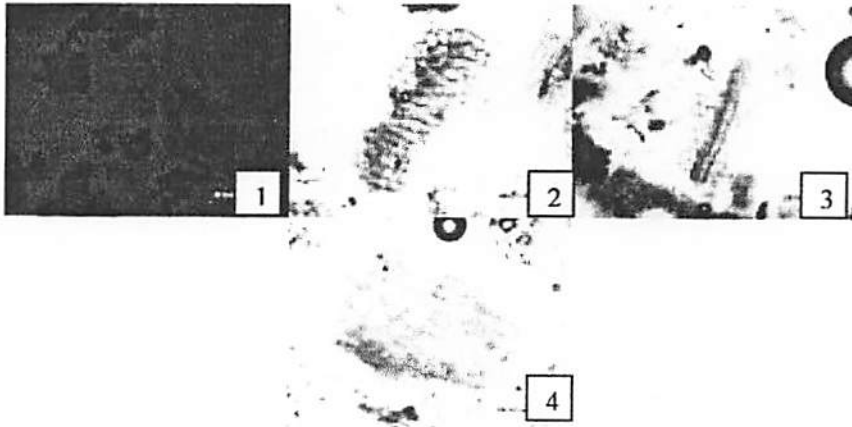
Hasil pengamatan uji mikroskopis simplisia tertera pada dibawah ini :



Gambar 4.19. Irisan Melintang Rimpang Temu Kunci

4.2.4 Identifikasi Serbuk Simplisia

Hasil pengamatan fragmen serbuk temu kunci diperoleh antara lain :



Gambar 4.11. Uji mikroskopis serbuk temu kunci

Keterangan gambar :

1. Amylum
2. Parenkim
3. Parenkim dengan berkas pengangkutan
4. Parenkim dengan sel minyak

4.2.5 Hasil Pengamatan Parameter Non Spesifik dan spesifik Serbuk Simplisia Temu Kunci

Hasil pengamatan parameter Non Spesifik dan Spesifik dari simplisia temu kunci , yang meliputi kadar sari larut air , sari larut etanol kadar abu dan kadar senyawa pinostrobin seperti terlihat pada tabel 4.33.

Tabel 4.33 Penetapan parameter non spesifik dan spesifik simplisia temu kunci

No	Paramater	Kadar (%)
1	Kadar sari larut air	4,41%
2	Kadar sari etanol	3,2%
3	Kadar abu	9,33%
4	Kadar pinostrobin	2,64%

4.2.5 Hasil Penetapan Kadar Pinostrobin Ekstrak Etanol Kering Temu Kunci

Hasil penetapan kadar pinostrobin dalam ekstrak etanol dengan penambahan cabosil – laktosa (1: 4) yang dilakukan dengan cara KLT densitometri tersaji dalam tabel 4.33.

Tabel 4.34. Kadar pinostrobin dalam ekstrak etanol kering temu kunci

Replikasi	Kadar	Rerata Kadar (%)
1	4,64	4,34 ± 0,26
2	4,14	
3	4,24	

4.2. Hasil Uji Toksisitas Akut Campuran Ekstrak Temu Kunci dan Sambiloto

Uji toksisitas akut campuran ekstrak temu kunci dan sambiloto digunakan dosis manusia, yaitu campuran ekstrak sambiloto yang setara dengan 30mg andrografolid dan ekstrak temu kunci yang setara dengan 30 mg pinostrobin. Toksisitas akut digunakan dengan mencit , sehingga faktor konversi sebesar 0,0026 untuk mencit 20 gram.

Dari hasil uji toksisitas akut campuran ekstrak sambiloto dan temu kunci sampai dengan 21 gram/kgBB mencit tidak ada mencit yang mati , sehingga disimpulkan jika campuran ekstrak tersebut relatif tidak toksik.

BAB VI KESIMPULAN DAN SARAN

6.1. Kesimpulan

1. a. Hasil penentuan parameter spesifik simplisia herba sambiloto diperoleh kadar sari larut air ($18,31 \pm 0,214$)%, kadar sari larut etanol ($12,47 \pm 0,116$)%, kadar andrografolida dalam simplisia sambiloto sebesar ($2,61 \pm 0,224$)% sedangkan hasil penentuan parameter non spesifik simplisia herba sambiloto diperoleh kadar abu total ($11,17 \pm 0,286$)%, kadar abu larut air ($4,52 \pm 0,139$)%, kadar abu tidak larut asam ($0,80 \pm 0,087$)%, kadar air ($8,78 \pm 0,191$)%, dan susut pengeringan sebesar ($8,47 \pm 0,166$)%.
b. Hasil penentuan parameter spesifik ekstrak etanol sambiloto kadar andrografolida dalam ekstrak sebesar ($14,91 \pm 0,514$)% dan kadar andrografolida dalam pengering $6,48 \pm 1,17\%$; sedangkan hasil penentuan parameter non spesifik diperoleh susut pengeringan ekstrak sebesar ($4,61 \pm 0,717$)%, kadar cemaran logam berat Cu ($1,47 \pm 0,049$) ppm dan Hg 0,002 ppm, dan negatif terhadap Pb, As, dan Cd serta bebas mikroba patogen .
2. a. Hasil penentuan parameter spesifik simplisia temu kunci (*Kaempferia pandurata* Roxb) diperoleh kadar sari larut air (4,41)%, kadar sari larut etanol ($3,2 \pm 0,11$)%, dan kadar pinostrobin dalam simplisia sebesar (2,64)% .
b. Diperoleh nilai parameter spesifik ekstrak etanol rimpang temu kunci yaitu kadar pinostrobin dalam ekstrak sebesar 4,43 %.
3. Campuran ekstrak etanol herba sambiloto (*Andrographis paniculata* Nees.) dan rimpang temu kunci dengan perbandingan (1 : 1) kandungan bahan aktifnya, memiliki toksisitas akut lebih besar dari 21 gram/kgBB mencit atau termasuk golongan bahan yang relative tidak toksik.

6.2. Saran

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut terhadap campuran ekstrak sambiloto dan temu kunci untuk menjadikan campuran tersebut menjadi Obat Herbal Terstandar kemopreventif antikanker yaitu uji tertatogenik, uji toksisitas sub akut dan uji kemopreventif antikanker.

DAFTAR PUSTAKA

- Bäcker, C. A., R. C. B. Van der Brink Jr., 1963. *Flora of Java vol. II, The Auspices of The Rijksherbariu, Leyden*
- Badan POM RI, 2005. *Kriteria dan Tata Laksana Pendaftaran Obat Tradisional, Obat Herbal Terstandar dan Fitofarmaka*, BPOM RI, Jakarta
- Chang, 1965, *Pharmacological and Application of Chinese Materia Medica, World Scientific Vol. 2, Hongkong*
- Departemen Kesehatan RI, 1979. *Materia Medika Indonesia, jilid III, Jakarta*
- Departemen Kesehatan RI, 1985. *Cara Pembuatan Siplisia*. Jakarta
- Departemen Kesehatan RI, 1995. *Farmakope Indonesia, edisi IV, Jakarta*
- Departemen Kesehatan RI, 2000. *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat, cetakan pertama*. Jakarta
- Ekasari, Wiwied. 1998. *Penetapan Kadar Andrografolid Dalam Siplisia Herba Sambiloto (*Andrographis paniculata* Nees) dan Produk Obat Tradisionalnya Untuk Data Standarisasi*. Lembaga Penelitian Universitas Airlangga. Surabaya.
- Gupta S et al. 1990. *Antidiarrhoeal activity of diterpenes of *Andrographis paniculata* (kalmegh) against *Escherichia coli* enterotoxin in in vivo models*. *International Journal of Crude Drug Research*.
- Handayani, Lestari, dan Suharmiati. 2002. *Meracik Obat Tradisional secara Rasional*. Pusat Penelitian & Pengembangan Pelayanan & Teknologi Kesehatan. dari www.tempo.co.id diakses November 2006
- Heyne K, 1987. *Tumbuhan Berguna Indonesia. Jilid III, Diterjemhkan oleh Badan Litbang Kehutanan, Jakarta*
- Indrayanto, G., 1994. *Metode Validasi pada Analisis Kimia*. Prosiding Pendidikan Berkelanjutan Apoteker. PBA 8. FFUA. ISFI. Surabaya
- Kusumawardhani, Dwi. 2005. *Uji Antimalaria In Vivo Ekstrak Sambiloto Terstandar (Parameter Kadar Andrografolida) pada Mencit*. Skripsi. Fakultas Farmasi UNAIR. Surabaya
- Madav S et al, 1995. *Analgesic and antiulcerogenic effects of andrographolide*. *Indian Journal of Pharmaceutical Science*
- Markham, K. R., 1988. *Pemanfaatan Tanaman Obat. Edisi Ketiga*. Departemen Kesehatan RI, Jakarta

- Matsuda, T., 1994. Cell Differentiation-Inducing Diterpen from *Andrographis paniculata* Nees., Chem. Phar. Bull, 42 (6)
- Midian, Sirait, dkk, 1987. Analisis Obat Tradisional, Departemen Kesehatan RI, Jakarta
- Mulya, M., dan Suharman, 1995. Analisis Instrumental, Airlangga University Press, Surabaya
- Panitia Pelaksanaan Rapat Kerja Penyusunan Parameter Standar Umum Ekstrak Tanaman Obat, 1999. Fakultas Farmasi UNAIR, Surabaya
- Puri, A. et al, 1993. Immunostimulant Agents From *Andrographis paniculata*. Journal of Natural Product 56(7)
- Rajagopal S., et al., 2003. Andrographolide, A Potential Cancer Therapeutic Agent Isolated from *Andrographis paniculata*. dalam www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/utis. diakses bulan November 2006
- Sambiloto Untuk Disentri dan Radang Lambung. Artikel. dalam www.republika.co.id, 2003 diakses bulan November 2006
- Sharma A., Lal K. and Handa SS., 1992. Standardization of The Indian Crude Drug Kalmegh by High-Pressure Liquid Chromatographic Determination of Andrographolide. Phytochemical Analysis 3
- Shen, Y. C, C. F. and Chiou, W. F., 2002. Andrographolide prevents Oxygen Radical Production by Human Neutrophils Possible Mechanism Involved in its Anti-inflammatory Effect. British Journal Pharmacology. 135(2)
- Sherma, Joseph et al., 2003. Handbook of Thin Layer Chromatography, 3rd ed, Revised and Expanded, Marcell Dekker INC, USA
- Skoog, Douglas. A. 1985. Principles Of Instrumental Analysis. CBS College Pulishing, Japan
- Stahl, E., 1969. Thin Layer Chromatography. Spring-Verlag, Berlin
- Standard of ASEAN Herbal Medicine, Volume I, 1993. ASEAN Country
- Sukardiman, 1997. Studi Pembiakan Kultur Sel Kanker untuk Uji Sitotoksitas Isolat Sambiloto (*Andrographis paniculata* Nees.), Laporan Penelitian Dosen Muda. Fakultas Farmasi UNAIR, Surabaya
- Sukardiman, 2002. Uji Antikanker Beberapa Tanaman Obat Indonesia Terhadap Kultur Sel Kanker Mieloma. Laporan Penelitian Project Grand. Fakultas Farmasi UNAIR, Surabaya
- Sutarjadi, Noor Choolis, 1992. Penelitian Obat Tradisional dan Bahan Nabati dari Universitas Airlangga, Prosiding Simposium Pengembangan dan Penelitian Obat Tradisional dan Fitofarmaka, Surabaya

Suyanto, 1995. Uji Aktivitas Anti Malaria Secara In Vitro Isolat Herba *Andrographis paniculata*. Skripsi. Fakultas Farmasi UNAIR. Surabaya

Tjitrosoepomo, G., 1988. Taksonomi Tumbuhan (Spermatophyta), Gajah Mada University Press, Yogyakarta

Touchstone Joseph C. Dobbins Murrel F., 1983. Practice of Thin Layer Chromatography, United States, John and Willey Sons Inc.

Walpole, Ronald E., 1995. Pengantar Statistika Edisi ke-3, PT Gramedia Pustaka Utama, Jakarta

WHO, 1998. Quality Control Methods for Medicinal Plants Materials. Geneva

WHO, 1999. WHO Monograph on Selected Medicinal Plants Vol. 2nd. Geneva

WHO, 2005. Quality Control Methods For Medicinal Plant Materials Revised Draft UpDate. Geneva

www.altcancer.silvermedicine.com diakses bulan November 2006

Yusron, M, dkk. 2005. Sirkuler No. 11, Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian Balai Penelitian Tanaman dan Aromatika, Bogor