

Characterization and Toxicity of Temulawak Curcuminoid Nanoparticles
(Karakterisasi dan Toksisitas Nanopartikel Kurkuminoid Temulawak)

Riki¹, Popi Asri Kurniatin¹, Laksmi Ambarsari^{1,2}, Waras Nurcholis^{1,2}, Latifah K. Darusman²,

¹*Department of Biochemistry, Bogor Agricultural University, Bogor, 16680, Indonesia*

²*Biopharmaca Research Center, Bogor Agricultural University, Bogor, 16128, Indonesia*

Received : 25 June 2015; Accepted: 1 December 2015

Corresponding author: Dr. Laksmi Ambarsari, M.Si; Departemen Biokimia, Jl. Agatis Gd. Fapet Lt. 5, Wing 5, Bogor 16680; Telp/Fax. +62251-8423267; E-mail: ami_icha@yahoo.com

ABSTRACT

Temulawak extract contains curcuminoids which have anticancer potential. However, clinical application of curcuminoid has been limited due to its low bioavailability. One of the efforts that can be developed to solve this problem is incorporated curcuminoids into Solid Lipid Nanoparticles (SLN) carriers system. The objective of this study was to characterize dan evaluate anticancer potential of temulawak ethanolic fraction nanoparticles. HPLC method was used to determined curcuminoids content of temulawak ethanolic fraction. Characterization indicators like polydispersity index, particle size, morphology, and entrapment efficiency. HPLC chromatogram has shown of curcumin, demethoxycurcumin, and bisdemethoxycurcumin were found in temulawak ethanolic fraction. The particle size of nanoparticles obtained in this study was 648.4 ± 95 nm with polydispersity index value of 0.216. A uniform size distribution of nanoparticles as observed by Transmission Electron Microscopy (TEM). The entrapment efficiency of curcuminoid in nanoparticles was about 29.8 %. Based on results of BSLT obtained temulawak extract Lethal Concentration (LC_{50}) value of 213.24 ppm and 828.78 ppm of nanoparticles.

Keywords: *anti cancer, bioavailability, curcuminoid, solid lipid nanoparticle, Temulawak*

ABSTRAK

Ekstrak temulawak diketahui mengandung kurkuminoid yang berpotensi sebagai anti kanker. Namun, aplikasi klinis kurkuminoid sangat terbatas karena bioavailabilitasnya yang rendah. Salah satu upaya yang dikembangkan untuk mengatasi masalah tersebut adalah menggabungkan kurkuminoid ke dalam sistem pembawa nanopartikel lemak padat. Tujuan penelitian ini adalah mengkarakterisasi dan menguji toksisitas nanopartikel kurkuminoid temulawak. Metode HPLC digunakan

untuk menentukan kandungan kurkuminoid pada pada fraksi etanol temulawak. Parameter karakterisasi nanopartikel berupa indeks polidispersitas (IP), ukuran partikel, morfologi dan efisiensi penyerapan. Kromatogram HPLC menunjukkan adanya kurkumin, demetoksikurkumin, and bisdemetoksikurkumin dalam ekstrak temulawak. Ukuran nanopartikel yang diperoleh pada penelitian ini adalah 648.4 ± 95 nm dengan indeks polidispersitas 0.216. Ukuran nanopartikel tampak seragam sebagaimana ditunjukkan pada TEM. Efisiensi penyerapan kurkuminoid dalam nanopartikel sebesar 29.8 %. Berdasarkan hasil uji BSLT diperoleh LC_{50} ekstrak temulawak sebesar 213.24 ppm sedangkan nanopartikel sebesar 828.78 ppm.

Kata kunci: anti kanker, bioavailabilitas, kurkuminoid, nanopartikel lemak padat, Temulawak

1. PENDAHULUAN

Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.) merupakan tanaman obat yang banyak digunakan di Indonesia sebagai obat tradisional dalam pengobatan berbagai macam penyakit antara lain gangguan hati, sembelit, diare, disentri, gangguan lambung, wasir dan gangguan kulit (Hwang *et al.* 2000). Temulawak diketahui mengandung senyawa bioaktif berupa kurkuminoid (Cahyono *et al.* 2011). Beberapa penelitian melaporkan bahwa kurkuminoid memiliki efek farmakologis antara lain antioksidan (Jayaprakasha *et al.* 2006), antialergi (Matsuda *et al.* 2004), antidiemensi (Lim *et al.* 2001), antiinflamasi (Banerjee *et al.* 2003), dan antikanker (Piantino *et al.* 2009; Li *et al.* 2013). Ekstrak temulawak yang mengandung kurkuminoid memiliki aktivitas antioksidan (Simanjuntak *et al.* 2008; Nurcholish *et al.* 2012; Wijayanto 2013) dan antiinflamasi (Nurcholish *et al.* 2012; Maulia 2014). Aktivitas inflamasi merupakan komponen penting dari perkembangan tumor. Banyak kanker muncul dari daerah inflamasi, iritasi kronis dan infeksi (Basnet & Basnet 2012). Berdasarkan uraian tersebut mengindikasikan bahwa ekstrak kurkuminoid temulawak berpotensi sebagai antikanker. Oleh karena itu, perlu dilakukan uji penapisan awal aktivitas antikanker terhadap

ekstrak kurkuminoid temulawak. Metode yang sering digunakan adalah uji toksisitas dengan *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT). Metode ini cepat, murah, prosedurnya sederhana dan hasilnya dapat dipercaya. Senyawa yang toksik berdasarkan metode BSLT seringkali berkorelasi positif sebagai antikanker (Meyer *et al.* 1982; Alam 2002).

Penggunaan ekstrak kurkuminoid temulawak sebagai antikanker sangat menjanjikan. Banyak penelitian menunjukkan bahwa gabungan beberapa komponen bioaktif dapat memberikan efek sinergis sehingga meningkatkan aktivitas. Aplikasi klinis kurkuminoid sangat terbatas karena sulit larut dalam air dan sistem bioavailabilitasnya yang rendah. Penggabungan kurkuminoid dengan makromolekul, formulasi nano, siklodekstrin, liposom dan hidrogel telah terbukti meningkatkan kelarutannya dalam air, dengan demikian meningkatkan waktu sirkulasi dan bioavailabilitasnya (Dhule *et al.* 2012). Salah satu cara yang telah dikembangkan adalah menggabungkan kurkuminoid ke dalam sistem pembawa nanopartikel lemak padat (Waghmare *et al.* 2012). Mujib (2011) melakukan penelitian nanoemulsi kurkuminoid temulawak tersalut lemak padat yang memperoleh nanoemulsi dengan ukuran 199.03 ± 67.62 nm dan efisiensi

penjerapan kurkuminoid sebesar 77.65 %. Nanoemulsi kurkuminoid temulawak memiliki aktivitas yang signifikan sebagai antioksidan dan antiinflamasi (Wahid 2013; Maulia 2014). Nanoemulsi tidak stabil dalam waktu penyimpanan yang cukup lama (Shah *et al.* 2014), sehingga perlu dibuat sediaan dalam bentuk serbuk. Sediaan serbuk obat memiliki beberapa keuntungan antara lain mudah terdispersi, mudah dalam pemberian dosis dan stabil secara kimia.

2. METODOLOGI

Bahan yang digunakan adalah simplisia temulawak dari Ciemas (Sukabumi), etanol 96 %, n-heksan, asam palmitat (MERCK), poloksamer 188 (BASF), air *reverse osmosis* (RO), metanol 99.99 %, maltodekstrin, air laut, dan larutan twin.

Prosedur Penelitian

Ekstraksi Temulawak

Sebanyak 100 g serbuk simplisia temulawak dimaserasi dengan 1 L etanol 96 % selama 24 jam. Maserat disaring dan filtratnya dikumpulkan dalam labu ekstraksi. Ekstrak etanol hasil maserasi difraksinasi cair-cair dengan n-heksana (1:1). Fraksi etanol yang diperoleh kemudian dipekatkan dengan penguap putar (Sutrisno *et al.* 2008).

Analisis Kurkuminoid dengan HPLC

Sampel kurkuminoid hasil ekstraksi ditimbang sebanyak 50 mg dan dilarutkan dengan metanol sampai volume 50 mL kemudian diencerkan 50 kali. Larutan dielusi secara gradien pada HPLC, laju alir 1 ml/menit, dan detektor UV 425 nm. Standar kurkuminoid dibuat dengan konsentrasi 0.5 ppm. Fase gerak terdiri

dari metanol, asam asetat 2 %, asetonitril (Jaya-prakasha *et al.* 2002).

Produksi Nanopartikel fraksi Etanol Temulawak

Fase lemak yang terdiri atas 1.0 g asam palmitat dan 0.1 g ekstrak kurkuminoid dipanaskan sampai suhu 75 °C dalam *batch* pemanasan dan diultrasonikasi selama 5 menit. Fase berair yang terdiri atas 0.5 g poloksamer 188, 0.5 g maltodekstrin dan 100 mL air *reverse osmosis* (RO) dipanaskan sampai suhu 75 °C diatas hot-plate sambil diaduk menggunakan stirer magnetik. Fase lemak didispersikan ke dalam fase berair kemudian diaduk pada suhu 75 °C selama 5 menit. Emulsi yang dihasilkan dihomogenisasi dengan kecepatan 13500 rpm selama 5 menit kemudian didinginkan pada suhu 10 °C selama 1 jam. Emulsi diultrasonikasi dengan amplitudo 20 % kemudian dikeringbekukan dengan *freeze-dryer* untuk mendapatkan serbuk nanopartikel (Ekaputra 2013).

Efisiensi Penjerapan

Sebanyak 1 mg serbuk nanopartikel kurkuminoid ditambahkan dengan larutan campuran metanol dan air (perbandingan 8:1) kemudian disentrifugasi pada 14000 rpm pada suhu 4 °C selama 40 menit. Residu diambil dan ditambahkan larutan campuran kemudian disentrifugasi kembali dengan kecepatan 14000 rpm pada suhu 4 °C selama 40 menit. Supernatan diambil kemudian diukur absorbansinya dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 425 nm. Efisiensi penjerapan dihitung dengan persamaan:

% Efisiensi penjerapan =

$$\left(\frac{\text{Konsentrasi kurkuminoid yang terjerap}}{\text{Konsentrasi kurkuminoid yang ditambahkan}} \right) \times 100 \%$$

Konsentrasi kurkuminoid terjerap diperoleh melalui perhitungan dengan menggunakan persamaan regresi linear dari deret standar kurkuminoid (Yadav *et al.* 2009).

Analisis Ukuran dan Morfologi Nanopartikel

Diameter Nanopartikel ekstrak kurkuminoid ditentukan dengan *Photon Correlation Spectroscopy* (PCS) menggunakan sebuah instrument laser light scattering (LS230; COULTER) dengan sudut 90 °C pada suhu 25 °C. Data analisis ukuran partikel ditentukan menggunakan distribusi volume (Luo *et al.* 2006). Analisis morfologi menggunakan *Transmission Electron Microscopy* (TEM) JEOL JEM 1400.

Uji Toksisitas Metode Meyer

Sebanyak 10 mg telur udang *Artemia salina* Leach direndam dalam 400 mL air laut yang telah disaring, kemudian diberi pencahayaan lampu TL dan diaerasi selama 48 jam sampai telur udang menetas dan siap diujicobakan. Setelah larva udang siap diujicobakan, sampel uji berupa nanopartikel dan fraksi etanol temulawak disiapkan untuk konsentrasi 1000 ppm, 500 ppm, 100 ppm dan 10 ppm. Perlakuan terhadap larva udang dilakukan dengan cara memasukkan 900 µL air laut yang berisi 10 larva ke dalam plate kemudian masing-masing ditambahkan 100 µL sampel uji. Setiap sampel dilakukan ulangan sebanyak tiga kali. Tingkat kematian larva dihitung pada setiap konsentrasi kemudian menentukan nilai LC50.

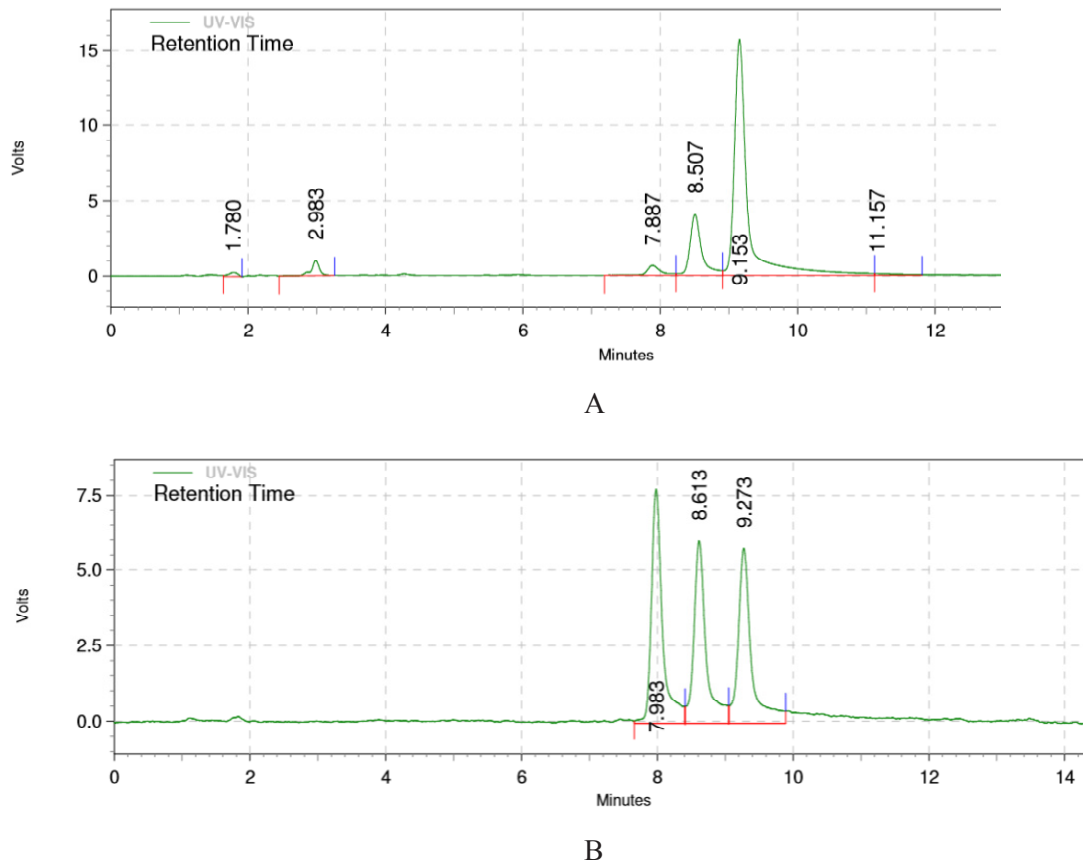
3. HASIL

Rendemen dan Kadar Kurkuminoid Ekstrak Temulawak Ciemas

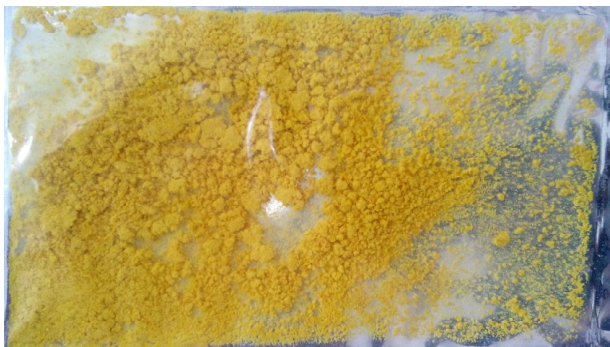
Rendemen ekstrak yang diperoleh dari hasil ekstraksi sebesar 8.32 %. Ekstrak dianalisis menggunakan HPLC untuk memastikan komponen utama yang terkandung pada ekstrak etanol rimpang temulawak yaitu kurkuminoid. Standar kurkuminoid yang digunakan adalah standar kurkuminoid komersial yang memiliki tiga komponen yaitu bisdemetoksikurkumin, demetoksikurkumin, dan kurkumin dengan waktu retensi (Rt) berturut-turut 7.890 menit, 8.507 menit, dan 9.157 menit (Jayaprakasha *et al.* 2002). Kromatogram HPLC menunjukkan ekstrak mengandung bisdemetoksikurkumin, demetoksikurkumin, dan kurkumin (Gambar 1). Berdasarkan hasil perhitungan, kadar kurkuminoid temulawak Ciemas sebesar 71.686 mg/g dengan rincian kadar bisdemetoksikurkumin sebesar 2.299 mg/g, demetoksikurkumin sebesar 13.658 mg/g dan kurkumin sebesar 55.729 mg/g.

Karakterisasi Nanopartikel Kurkuminoid Temulawak

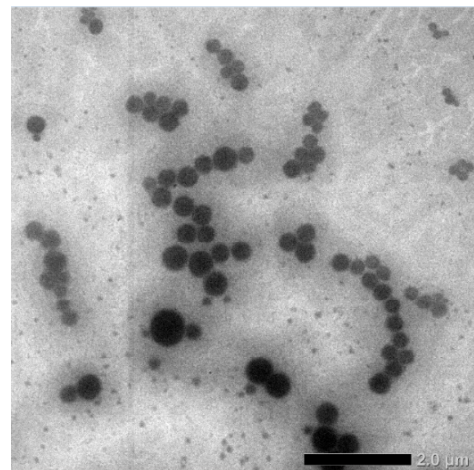
Nanopartikel yang diperoleh sebanyak 1.201 gram (Gambar 2). Nanopartikel dikarakterisasi dengan parameter Indeks Polidispersitas (IP), ukuran partikel, morfologi dan efisiensi penjerapan. Nilai IP nanopartikel sebesar 0.216 dengan ukuran 648.4 ± 95 nm. Pengamatan morfologi nanopartikel dengan TEM ditunjukkan pada Gambar 3. Nanopartikel tampak berupa bulatan-bulatan hitam. Efisiensi penjerapan kurkuminoid dalam nanopartikel sebesar 29.8 % (Tabel 1).



Gambar 1 Kromatogram HPLC; A) Fraksi etanol temulawak dan B) standar kurkuminoid



Gambar 2 Serbuk Nanopartikel Kurkuminoid Temulawak



Gambar 3 Pengamatan morfologi nanopartikel fraksi etanol temulawak dengan TEM

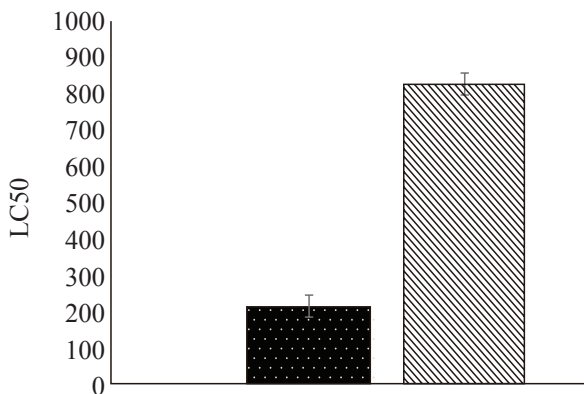
Tabel 1 Ukuran Partikel, Indeks Polidispersitas dan Efisiensi Penjerapan

Karakterisasi	Nanopartikel
Ukuran Partikel (nm)	648.4 ± 95.0
Indeks Polidispersitas	0.216
Efisiensi Penjerapan (%)	29.8

Toksistas Metode Meyer

Toksistas ekstrak dan nanopartikel kurkuminoid temulawak diuji menggunakan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT).

Tingkat toksisitas ditentukan dari nilai LC_{50} . Dari analisis regresi antara konsentrasi dan persentase mortalitas, nilai LC_{50} nanopartikel sebesar 828.78 ppm dan ekstrak temulawak sebesar 213.24 ppm (Gambar 4).



Gambar 4 Nilai LC_{50} oleh perlakuan ekstrak (▨) dan nanopartikel (■)

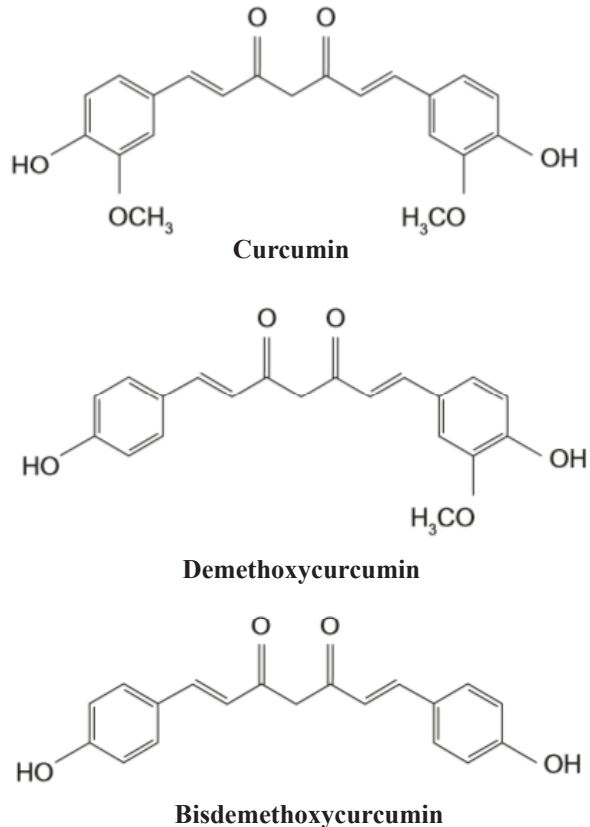
4. PEMBAHASAN

Kurkuminoid Fraksi Etanol Temulawak

Kurkuminoid merupakan salah satu bahan bioaktif utama dalam temulawak yang berkhasiat sebagai obat (Hwang 2006). Kurkuminoid berperan pada penampakan warna kuning tanaman curcuma yang terdiri atas tiga komponen utama yaitu kurkumin, demetoksikurkumin, and bisdemetoksikurkumin (Gambar 5) (Mishra 2009). Kurkuminoid diperoleh dengan mengekstraksi simplisia temulawak dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol kemudian difraksinasi cair-cair dengan n-heksan. Ekstraksi dilakukan dengan etanol dimaksudkan agar senyawa kurkuminoid tersari dengan baik (Jayaprakasha *et al.* 2002; Pothitirat & Gritsanapan 2005; Cahyono 2013). Etanol juga merupakan pelarut terbaik untuk mengekstrak simplisia tumbuhan untuk tujuan obat herbal (Faraouq 2003). Ekstrak etanol yang

diperoleh difraksinasi cair-cair menggunakan n-heksana untuk menghilangkan komponen non polar lain yang ikut terekstrak. Hasil analisis HPLC menunjukkan bahwa ekstrak temulawak dari daerah Ciemas mengandung kurkumin, demetoksikurkumin, and bisdemetoksikurkumin (Gambar 1) dengan munculnya kromatogram dengan waktu retensi 7.887 menit, 8.507 menit dan 9.153 menit.

Berdasarkan hasil penelitian ini juga diketahui bahwa temulawak dari daerah Ciemas memiliki kadar kurkuminoid yang berbeda dengan daerah lain seperti sukabumi dan wonogiri. Kadar kurkuminoid temulawak Ciemas sebesar 71.686 mg/g sedangkan dari sukabumi dan wonogiri masing-masing sebesar 31.27 mg/



Gambar 5 Struktur kimia komponen kurkuminoid Temulawak Ciemas

g dan 75.78 mg/g (Nurcholis *et al.* 2012; Maulia 2014). Kemampuan suatu tanaman dalam memproduksi metabolit sekunder termasuk kurkuminoid dipengaruhi oleh banyak faktor diantaranya genetik, lingkungan, dan keseimbangan nutrisi karbon sehingga kadar kurkuminoid temulawak dari daerah yang berbeda cenderung berbeda (Laitinen *et al.* 2005; Lerda 2002).

Karakteristik Nanopartikel Kurkuminoid Temulawak

Karakterisasi merupakan hal yang sangat penting untuk mengetahui mutu suatu sediaan nanopartikel dalam penggunaannya sebagai pembawa obat. Nanopartikel dikarakterisasi dengan parameter Indeks Polidispersitas (IP), ukuran partikel, morfologi dan efisiensi penyerapan. Ukuran partikel dari nanopartikel lemak padat berkaitan erat dengan penyerapannya di dalam tubuh. Kecilnya ukuran partikel akan meningkatkan luas permukaan yang menyebabkan kelarutan tinggi sehingga memudahkan partikel tersebut untuk diserap ke dalam tubuh (Awad *et al.* 2008) dan meningkatkan efektivitas pengobatan (Yen *et al.* 2008). Nanopartikel kurkuminoid temulawak yang diperoleh sebesar 648.4 ± 95 nm. Ukuran tersebut masih berada dalam rentang ukuran nanopartikel lemak padat yang yaitu 50-1000 nm (Ekambram *et al.* 2012). Namun, ukuran nanopartikel yang diperoleh lebih besar dibandingkan dengan hasil penelitian sebelumnya. Mujib (2011) dan Ekaputra (2013) memperoleh nanopartikel kurkuminoid temulawak masing-masing 199.03 ± 67.62 nm dan 166.17 ± 39.64 nm. Pada penelitian ini, nanopartikel ditambahkan maltodekstrin sebagai bahan pengisi sehingga terjadi pertambahan ukuran. Penelitian ini sejalan dengan penelitian Huda (2012) yang melakukan pembuatan nanopartikel

kurkumin tersalut lipid padat dengan penambahan maltodekstrin, mendapatkan ukuran rata-rata 690.4 nm. Dewantari *et al.* (2013) juga melaporkan bahwa nanopartikel ekstrak sirih merah yang ditambahkan dengan bahan pengisi maltodekstrin memiliki ukuran yang lebih besar dibandingkan dengan tanpa bahan pengisi.

Keseragaman ukuran partikel ditentukan dari nilai indeks polidispersitas (IP) partikel tersebut. Indeks polidispersitas adalah nilai yang menyatakan distribusi ukuran partikel. Nilai IP kurang dari 0.3 menunjukkan bahwa ukuran partikel mempunyai distribusi yang sempit (Yen *et al.* 2008). Berdasarkan hasil analisis PSA diperoleh nilai IP nanopartikel 0.219 (Tabel 1) yang menunjukkan ukuran partikel berada pada distribusi yang sempit. Ukuran nanopartikel yang cukup seragam terlihat dari hasil analisis TEM (Gambar 2).

Terdapat korelasi antara efisiensi penyerapan dengan pelepasan obat, efisiensi penyerapan yang tinggi akan meningkatkan pelepasan obat (Sonaje *et al.* 2008) sehingga efisiensi penyerapan kurkuminoid dalam nanopartikel perlu diketahui. Kurkuminoid yang terjerap ditentukan dengan metode langsung yaitu mengukur jumlah kurkuminoid yang terjerap dalam fase lemak. Berdasarkan hasil perhitungan diperoleh efisiensi penyerapan kurkuminoid dalam nanopartikel sebesar 29.8 % (Tabel 1) yang lebih rendah dibandingkan dengan hasil penelitian Mujib (2011) dan Ekaputra (2013) yang mendapatkan efisiensi penyerapan kurkuminoid masing-masing sebesar 77.65 % dan 86.02 %. Hal ini disebabkan karena kurkuminoid dalam fase lemak tidak larut sempurna sehingga sebagian kurkuminoid tidak terjerap. Menurut Parhi dan Suresh (2010), efisiensi penyerapan dipengaruhi oleh kelarutan senyawa bioaktif di

dalam lemak cair. Apabila tidak larut sempurna dalam lemak cair, maka sebagian senyawa bioaktif akan terlepas dari matriks lemak dan terlarut dalam media pendispersi yang distabilkan oleh pengemulsi.

Toksisitas Nanopartikel Kurkuminoid Temulawak

Penapisan awal tingkat toksisitas nanopartikel kurkuminoid temulawak diuji menggunakan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT). BSLT merupakan metode yang sering digunakan untuk penapisan awal bahan yang toksik seperti ekstrak fungi, tumbuhan, logam berat, pestisida, substansi toksin dari sianobakteri (Carballo *et al.* 2002). Uji toksisitas dengan metode BSLT ini memiliki cakupan aktivitas farmakologi yang luas, cepat, murah, prosedurnya sederhana dan hasilnya dapat dipercaya. Selain itu, metode ini sering digunakan sebagai metode penapisan senyawa antikanker karena bahan yang toksik menurut metode ini seringkali berkorelasi positif sebagai antikanker. Tingkat toksisitas ditentukan dari nilai LC_{50} . Suatu fraksi atau ekstrak dikatakan aktif bila mempunyai nilai $LC_{50} \leq 1000 \mu\text{g/mL}$ (Meyer 1982; Alam 2002).

Berdasarkan hasil uji BSLT diperoleh LC_{50} nanopartikel sebesar 828.78 ppm dan ekstrak temulawak sebesar 213.24 ppm (Gambar 4). Jika dikonversi berdasarkan konsentrasi ekstrak, nilai LC_{50} nanopartikel sebesar 0.83 ppm sedangkan ekstrak sebesar 213.24 ppm. Ini menunjukkan bahwa nanopartikel lebih toksik dibandingkan dengan ekstrak. Hal ini disebabkan karena nanopartikel dapat masuk ke dalam sel membawa kurkuminoid dengan mekanisme endositosis. Nanopartikel diproses melalui interaksi spesifik antara permukaan nanopartikel

dan reseptor permukaan sel yang selanjutnya mengaktifkan berbagai jalur pensinyalan. Selain mekanisme endositosis, nanopartikel juga dapat masuk ke dalam sel melalui penetrasi bilayer pasif. Kemampuan nanopartikel untuk melekat dan melewati membran sel bergantung pada karakteristik fisikokimianya berupa ukuran, komposisi dan muatan permukaannya. Nanopartikel yang ukurannya kecil ($< 200 \text{ nm}$) mudah melewati membran sel, sedangkan yang berukuran besar dapat melewati membran dengan menginduksi deformasi membran sel (Tsuda *et al.* 2015). Komposisi dan muatan partikel mempengaruhi pengambilan partikel. Partikel yang hidrofob akan diabsorpsi lebih cepat daripada partikel yang permukaannya bersifat hidrofil. Peningkatan hidrofobisitas partikel menambah permeabilitas melalui mukus tetapi mengurangi translokasi melalui dan melintasi sel absorpsi. Karena itu, kesetimbangan sifat hidrofil-lipofil optimum merupakan sifat yang perlu dimiliki matriks penyusun nanopartikel (Bhardwaj & Kumar 2006).

Meyer *et al.* (1982) menyatakan bahwa ekstrak dengan $LC_{50} < 30 \text{ ppm}$ termasuk kategori sangat toksik, sedangkan $31 \text{ ppm} < LC_{50} \leq 1000 \text{ ppm}$ termasuk kategori cukup toksik. Dengan demikian, baik ekstrak maupun nanopartikel termasuk kategori cukup toksik karena LC_{50} berada pada rentang $31 \text{ ppm} < LC_{50} \leq 1000 \text{ ppm}$. Tingkat toksisitas ekstrak temulawak Ciemas pada penelitian ini lebih rendah daripada ekstrak Ciemas hasil penelitian sebelumnya yaitu $90.33 \pm 23.9 \text{ ppm}$ (Permasku 2014). Perbedaan tingkat toksisitas ini disebabkan oleh perbedaan kandungan komponen bioaktif pada temulawak walaupun dari aksesori yang sama. Baik ekstrak maupun nanopartikel kurkuminoid temulawak mempunyai efek toksik karena me-

memiliki LC_{50} lebih kecil dari 1000 ug/ml, sehingga dapat diteliti lebih lanjut efeknya toksiknya terhadap sel kanker.

5. UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini didanai oleh Hibah Penelitian Batch I Program Penelitian Riset Andalan Perguruan Tinggi dan Industri (RAPID) tahun anggaran 2015 nomor: 083/SP2H/PL/Dit.Litabmas/II/2015 yang diketuai Prof. Dr. Ir. Latifah K. Darusman, MS.

6. DAFTAR PUSTAKA

- Alam G. 2002. Brine Shrimp Lethality Test (BSLT) sebagai bioassay dalam isolasi senyawa bioaktif dari bahan alam. *Majalah Farmasi dan Farmakologi*. 6(2):432-435.
- Awad T, Helgason T, Kristbergsson K, Decker EA, Weiss J, McClements DJ. 2008. Solid lipid nanoparticles as delivery systems for bioactive food components. *Food Biophysics*. 3:146-154.
- Banerjee M, Tripathi LM, Srivastava VM, Puri A, Shukla R. 2003. Modulation of inflammatory mediators by ibuprofen and curcumin treatment during chronic inflammation in rat. *Immunopharmacol. Immunotoxicol*. 25:213-224.
- Bhardwaj V. and Kumar MNVR. 2006. Nanoparticle technology for drug delivery; Polymeric nanoparticles for oral drug delivery. Taylor and Francis Group. New York. E-book. http://ajprd.com/downloadbooks_pdf/49.pdf.
- Basnet P and Basnet NS. 2012. Curcumin: A Challenge in cancer treatment-A review. *JNPA*.26(1):19-47.
- Cahyono B, Huda MDK, Limantara L. 2011. Pengaruh proses pengeringan rimpang temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* roxb) terhadap kandungan dan komposisi kurkuminoid. *Reaktor*. 13(3):165-171.
- Carballo J, Hernandez-Inda ZL, Perez P, and Garcia-Gravalos MD, 2002. A comparison between two brine shrimp assays to detect *in vitro* cytotoxicity in marine natural products. *BMC Biotechnology*. 2(1): 17 pp.
- Dewantari KT, Yuliani S, Yasni S. 2013. Ekstraksi dan karakterisasi nanopartikel ekstrak sirih merah (*Piper crocatum*). *Jurnal Pasca Pannen*. 10(2):58-65.
- Dhule SS, Penfornis P, Frazier T, Walker R, Fieldman J, Tan G, He J, Alb A, John V, Pochampally R. 2012. Kurkumin-loaded gamma(γ)-cyclodextrin liposomal nanoparticles as delivery vehicles for osteosarcoma. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology, and Medicine*. 8:440-451.
- Ekambaram P, Sathali AAH, Priyanka K. 2012. Solid lipid nanoparticles: A review. *Sci. Revs. Chem. Commun*. 2(1):80-102.
- Ekaputra HR. 2013. Optimisasi dan karakterisasi nanokurkuminoid tersalut asam palmitat [Skripsi]. Bogor: Institut Pertanian Bogor.
- Faraouq. 2003. Ekstrak sebagai salah satu pengembangan bentuk obat tradisional. Dalam: Prosiding Seminar Nasional Tumbuhan Obat Indonesia XXIII. Jakarta. Hal: 45-52.
- Hwang, J.K. 2006. Xanthorizol; A new bioactive natural compound. Departement of Biotechnology, Yonsei University, Yonsei.
- Huda M. 2012. Pembuatan nanopartikel lipid padat untuk meningkatkan laju disolusi kurkumin [Skripsi]. Depok: Universitas Indonesia.
- Jayaprakasha GK, Jaganmohan RL, Sakariah KK. 2002. Improved HPLC method for the determination of curcumin, demethoxycurcumin and bisdemethoxycurcumin. *J Agric Food Chem*. 50:3668-3672.
- Jayaprakasha GK, Rao LJ, Sakariah KK. 2006. Antioxidant activities of curcumin, demethoxycurcumin and bisdemethoxycurcumin. *Food chemistry*. 98: 720-724.

- Laitinen ML, Julkunen-Tiitto R, Tahvanainen J, Heinen J, Rousi M. 2005. Variation in birch (*Betula pendula*) shoot secondary chemistry due to genotype, environment, and ontogeny. *J. Chem. Ecol.* 31:697-717.
- Lerdau, M. 2002. Benefits of the carbon-nutrient balance hypothesis. *OIKOS* 98:534-536.
- Li Y, Gao J, Zhong Z, Hoi P, Lee SM, Wang Y. 2013. Bisdemethoxycurcumin suppresses MCF-7 cells proliferation by inducing ROS accumulation and modulating senescence-related pathways. *Pharmacological Reports.* 65:700-709.
- Lim GP, Chu T, Yang F, Beech W, Frautschy SA, Cole GM. 2001. The curry spice curcumin reduces oxidative damage and amyloid pathology in an alzheimer transgenic mouse. *J. Neurosci.* 21:8370-7.
- Luo Y, Chen D, Ren L, Zhao X, Qin J. 2006. Solid lipid nanoparticle for enhancing vinpocetine's oral bioavailability. *Journal of Controlled Release.* 114:53-59.
- Matsuda H, Tewtrakul S, Morikawa T, Nakamura A. 2004. Anti-allergic principles from thai zedoary: structural requirements of curcuminoids for inhibition of degranulation and effect on the release of TNF- α and IL-4 in RBL-2H3 cells. *Bioorg. Medicinal Chem.* 12:5891-5898.
- Maulia P. 2014. Aktivitas antiinflamasi sediaan nanopartikel ekstrak kurkuminoid temulawak tersalut asam palmitat secara *in vivo* [Skripsi]. Bogor: Institut Pertanian Bogor.
- Meyer UN, Ferigni NR, Putnam JE, Jacobsen LB, Nichols DE, and McLaughlin JL. 1982. Brine Shrimp: A convenient general bioassay for active plant constituents. *Planta Medica.* 45:31-34.
- Mishra, P. 2009. Isolation, spectroscopic characterization and molecular modeling studies of mixture of *Curcuma longa*, ginger and seeds of fenugreek. *IJPR.* 1(1):79-95.
- Mujib MA. 2011. Pencirian nanopartikel kurkuminoid tersalut lemak padat [tesis]. Bogor: Institut Pertanian Bogor.
- Nurcholis W, Ambarsari L, Sari NLPE, Darusman LK. 2012. Curcuminoid contents, antioxidant and anti-inflammatory activities of *Curcuma xanthorrhiza* RoxB. and *Curcuma domestica* Val. promising lines from Sukabumi of Indonesia. *Prosiding Seminar Nasional Kimia.* Surabaya, 25 Pebruari 2012.
- Parhi R, Suresh P. 2010. Production of solid lipid nanoparticles-drug loading and release mechanism. *JCPR.* 2:211-227.
- Permasku G. 2014. Aktivitas inhibisi enzim α -glukosidase dan sitotoksisitas ekstrak kurkuminoid rimpang temulawak dari berbagai aksesori (*in vitro*) [skripsi]. Bogor: Institut Pertanian Bogor.
- Piantino CB, Salvadori FA, Ayres PP, Kato RB, Srougi V, Leite KR, Srougi M. 2009. An Evaluation of the Anti-neoplastic Activity of Kurkumin in Prostate Cancer Cell Lines. *International Braz J Urol.* Vol. 35 (3): 354-361.
- Pothitirat W and Gritsanapan W. 2005. Quantitative analysis of curcumin, demethoxycurcumin and bisdemethoxycurcumin in the crude curcuminoid extract from *Curcuma longa* in thailand by tlc-densitometry. *MUJ Pharm Scien.*32(1-2): 23-30.
- Shah R, Eldridge D, Palombo E, Harding I. 2014. Optimisation and stability assessment of solid lipid nanoparticles using particle size and zeta potential. *Journal of Physical Science.* 25(1):59-75.
- Simanjuntak P, Rachman F, Logawa ED, Hegartika H. 2008. Aktivitas antioksidan ekstrak tunggal dan kombinasinya dari tanaman *Curcuma* spp. *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia.* 2(6):69-74.
- Sonaje K, Italia JL, Sharma G, Bhardwaj V, Tikoo K, Kumar MN. 2007. Development of biodegradable nanoparticles for oral delivery of ellagic acid and evaluation of their antioxidant efficacy against cyclosporine A-induced nephrotoxicity in rats. *Pharm Res.* 24:899-908.

- Sutrisno, Sukarianingsih D, Saiful M, Putrika A, Kusumaningtyas DI. 2008. Curcuminoids from *Curcuma xanthorrhiza* Roxb: Isolation, characterization, identification, and analysis of antioxidant activity. *Proceedings of the first international symposium on temulawak*. Bogor, 27–29 Mei 2008.
- Tsuda Akira and Gehr Peter. 2015. Nanoparticles in the lung environmental exposure and drug delivery. CRC Press. Amerika Serikat. E-book. <https://onlybooks.org/nanoparticles-in-the-lung-environmental-exposure-and-drug-delivery-18241>.
- Waghmare AS, Grampurohit ND, Gadhawe MV, Gaikwad DD, Jadhav SL. 2012. Solid lipid nanoparticle: A promising drug delivery system. *International Research Journal of Pharmacy*. 4(3):100-107.
- Wahid MBR. 2013. Aktivitas antioksidan nanokurkuminoid varietas temulawak asal balitro pada hati tikus jantan sprague dawley [Skripsi]. Bogor: Institut Pertanian Bogor.
- Wijayanto EA. 2013. Kandungan kurkuminoid dan daya antioksidan aksesori temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* roxb.) asal Sukabumi [Skripsi]. Bogor: Institut Pertanian Bogor.
- Yadav V, Vinay P, Sarasija S, Yadav S. 2009. Kurkumin loaded palmitic acid microparticles. *InPharm Communique*. 1:15.
- Yen FL, Wu TH, Lin LT, Cham TM, Lin CC. 2008. Nanoparticles formulation of *Cucuta chinensis* prevents acetaminophen-induced hepatotoxicity in rats. *Food and Chemical Toxicology*. 46:1771–1777.