

EFEK SITOTOKSIK EKSTRAK UMBI TUMBUHAN TEMU GIRING (*CURCUMA HEYNEANA*) DAN TEMU IRENG (*CURCUMA AERUGINOSA*) TERHADAP BEBERAPA SEL KANKER

Oleh

Sri Atun, Nurfinaz Aznam, Retno Arianingrum, Sri Nurestri
Staf Pengajar FMIPA UNY dan University of Malaya

Abstract

The purpose of this study is to investigate the cytotoxic activity of extracts and fractions of the rhizoma from temu giring and temu ireng against some cancer cells, such as breast carcinoma cells (MCF-7) and cervical carcinoma (Ca Ski). The research method is to do with experiments in the laboratory which includes extraction and fractionation of compounds from the rhizome from temu giring and temu ireng, test the cytotoxicity against cancer cells Breast carcinoma (MCF-7) and cervical carcinoma (Ca Ski). Test results on the activity of extracts and fractions from tubers from temu giring and temu ireng on breast carcinoma (MCF-7); Cervical carcinoma (Ca Ski) showed good activity (below 100 µg / ml), except the methanol extract temu ireng which shows the IC₅₀ upper of 100 µg / ml. This indicates that the extracts from temu giring and temu ireng great potential for development as anticancer drug.

Keywords: Curcuma heyneana; Curcuma aeruginosa; cytotoxic effect; anticancer

PENDAHULUAN

Beberapa penelitian etnomedika yang tercatat dalam dokumen kuno dari beberapa wilayah Indonesia telah diketahui sebanyak 78 spesies tumbuhan yang digunakan oleh 34 etnis untuk mengobati penyakit malaria, 30 etnis memanfaatkan 133 spesies tumbuhan untuk mengobati penyakit demam, 30 etnis memanfaatkan 110 spesies tumbuhan untuk mengobati gangguan pencernaan, dan 27 etnis memanfaatkan 98 spesies tumbuhan untuk mengobati penyakit kulit. Namun demikian, agar tumbuhan tersebut dapat dikembangkan sebagai obat modern dan dilestarikan perlu dilakukan penelitian yang berkelanjutan, sehingga dapat diketahui jenis senyawa bioaktifnya dan khasiatnya untuk

mengobati penyakit-penyakit tersebut. Salah satu jenis tumbuhan herbal yang banyak disebut-sebut dalam dokumen kuno tersebut adalah temu giring (*Curcuma hyenana*) dan temu ireng (*C. aeruginosa*) (Dina N., 2004).

Aktivitas biologi senyawa biomolekul dari umbi tumbuhan obat temu giring (*curcuma hyenana*) dan temu ireng (*C.aeruginosa*) perlu digali secara berkesinambungan, sehingga dapat memberikan manfaat bagi kehidupan. Hasil yang diharapkan dari penelitian ini adalah dapat diketahui struktur senyawa bioaktif dari umbi tumbuhan obat herbal temu giring (*Curcuma hyenana*) dan temu ireng (*C. aeruginosa*), yang memiliki aktivitas sitotoksik terhadap sel lines kanker. Dengan data struktur dan bioaktivitas tersebut dapat digunakan sebagai

dasar pengembangan pemanfaatan tumbuhan serta *lead compound* senyawa obat baru.

Tujuan umum penelitian yang ingin dicapai adalah untuk mengetahui aktivitas sitotoksik terhadap beberapa sel line kanker, seperti sel *Breast carcinoma (MCF-7)* dan *Cervical carcinoma (Ca Ski)* dari ekstrak dan fraksi-fraksi umbi tumbuhan temu giring dan temu ireng.

Dengan mengetahui aktivitas tersebut dapat digunakan sebagai landasan dalam pengembangan pemanfaatan senyawa maupun ekstrak obat herbal temu giring (*Curcuma hyenana*) dan temu ireng (*C. aeruginosa*) sebagai bahan fitofarmaka, maupun obat baru antikanker, serta sebagai *lead compound* obat baru antikanker.

Temu giring (*Curcuma heyneana*) dan temu ireng (*C. aeruginosa*) merupakan tanaman obat dari satu famili Zingiberaceae. Namun, keduanya mempunyai kandungan kimia berbeda, terutama kadar minyak atsirinya. Di dalam rimpang kedua temu-temuan ini terdapat zat aktif yang dapat membunuh cacing ascaris seperti halnya piperazin sitrat (obat sintetis yang paling efektif mem-berantas cacing ascaris). Zat aktif itu adalah minyak atsiri, monoterpen, seskuiterpen. Diduga, zat tersebut bekerja mengantagonis asetilkolin, sehingga menekan kontraksi otot polos. Dari penelitian *in vitro* terbukti, perasan rimpang temu ireng dapat menekan

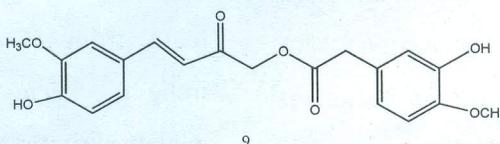
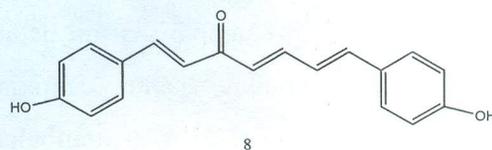
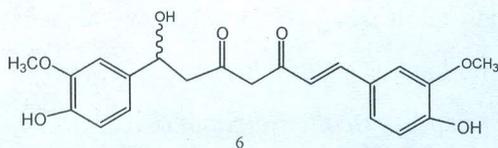
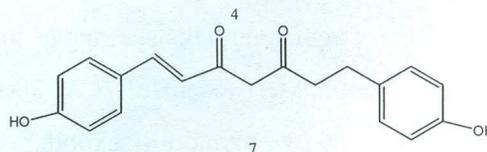
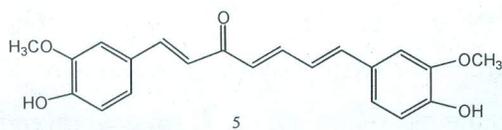
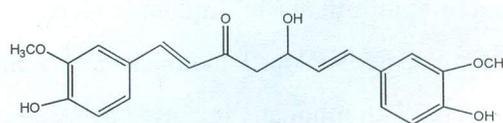
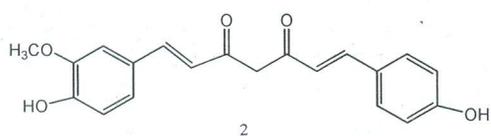
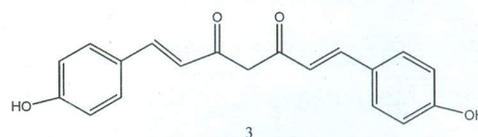
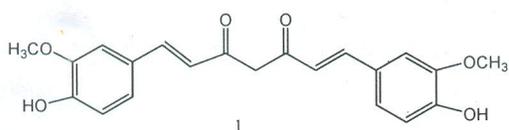
amplitudo kontraksi spontan jejunum (usus kecil) kelinci. Diduga, zat aktif yang bekerja sebagai antelmentik berasal dari minyak atsiri. Mengingat dengan cara sinergis kedua tanaman ini bersifat antelmentik, maka dicoba pula mengkombinasikan kedua tanaman itu sebagai antelmentik. Penelitian yang dilakukan secara *in vitro* sediaan rebusan irisan rimpang temu ireng lebih cepat mematikan *Ascaridia galli* dibanding rebusan parutan dan rebusan serbuk. Hal ini diperkuat dengan analisis kuantitatif pada kromatografi lapis tipis. Ternyata pada sediaan irisan terdapat bercak dengan intensitas lebih kuat dibandingkan yang lain (Endah E.R., 2004). Dalam penelitian etnomedika beberapa naskah kuno, disebutkan penggunaan temu giring (*Curcuma hyenana*) dan temu ireng (*C. aeruginosa*) sebagai salah satu bahan yang digunakan dalam ramuan untuk mengobati demam maupun dahak berlendir, dan penyakit kulit, (Dina N, dkk., 2004).

Tumbuhan temu giring (*Curcuma hyenana*) dan temu ireng (*C. aeruginosa*) termasuk dalam famili Zingiberaceae. Menurut Cronquist (1981) famili Zingiberaceae terdiri dari 47 genus dan sekitar 1000 spesies, tersebar di Asia Selatan dan Asia Tenggara. Tumbuhan ini dilaporkan banyak digunakan dan terdapat dalam ramuan obat tradisional jamu. Selain sebagai rempah-rempah, juga digunakan untuk obat-obatan, seperti untuk

pengobatan penyakit kulit, penyakit yang berhubungan dengan saluran pernafasan, sinusitis, asma, peluruh dahak, nyeri perut, sembelit, bengkak, rematik, hepatitis, sakit mata, dan pengobatan wanita sesudah melahirkan (Heyne, 1987; Dharma, 1985; Morikawa, 2002).

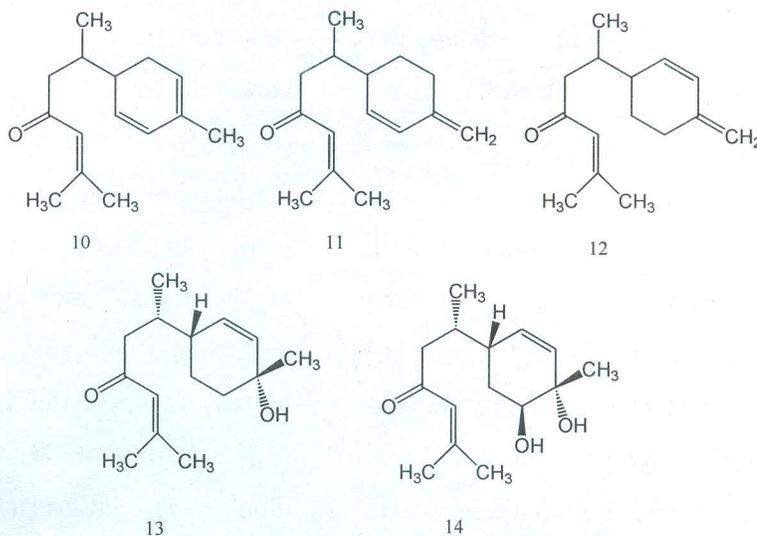
Penelitian kandungan senyawa metabolit sekunder tumbuhan famili Zingiberaceae yang banyak dilaporkan adalah dari tumbuhan *C. domestica*; *C. longa*; *C. anthorrhiza*; *C. zedoaria*, sedangkan *C. hyenana* (temu giring) dan *C. aeruginosa* (temu ireng) belum diteliti secara tuntas (Wu, 2002; Syamsul A.A, 2007). Dari

beberapa tumbuhan *Curcuma* tersebut dilaporkan beberapa spesies yang telah diteliti mengandung senyawa fenol turunan diarilheptanoid, kurkuminoid, dan senyawa seskuiterpen. Beberapa senyawa kurkuminoid yang telah ditemukan pada *C. domestica* dan *C. longa* antara lain kurkumin (1) demetoksikurkumin (2) bis(4-hidroksisinoil)-metan (3) dihidrokurkumin (4), 1,7-bis(4-hidroksi-3-metoksifenil)-1,4,6-heptatrien-3-on (5), 1-hidroksi-1,7-bis(4-hidroksi-3-metoksifenil)-6-hepten-3,5-dion (6), 1,7-bis(4-hidroksi-fenil)-1-hepten,3,5-dion (7), 1,7-bis(4-hidroksifenil)-1,4,6-heptatrien-3-on (8), dan calebin A (9).



Selain senyawa kurkuminoid, dari *C. domestica* juga ditemukan senyawa seskui-terpen keton jenis bisabolen, seperti α -

tumeron (10), β -tumeron (11), kurlon (12), 4-hidroksibisabola-2,10-dien-4-on (13), dan bisakuron (14) (Sjamsul A.A, 2007).



Beberapa penelitian terhadap efek farmakologi senyawa kurkuminoid yang telah ditemukan dari tumbuhan famili Zingiberaceae memperlihatkan aktivitas antioksidan, antiinflamasi, antikarsinogen, dan antifungal. Sedangkan kandungan kimia minyak atsiri tumbuhan ini memperlihatkan sifat-sifat sebagai penolak serangga, anti-jamur, dan antibakteri (Sjamsul A.A, 2007). Kandungan senyawa metabolit sekunder dari temu giring (*Curcuma hyenana*) dan temu ireng (*C. aeruginosa*) sampai saat ini belum dilaporkan secara tuntas, namun demikian biasanya senyawa dari spesies tumbuhan dalam satu famili memiliki kemiripan satu dengan yang lainnya. Oleh karena itu dalam penelitian ini akan dilakukan analisis ke-

anekaragaman struktur senyawa metabolit sekunder dari kedua spesies tersebut, serta potensi sitotoksiknya terhadap sel lines kanker.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini merupakan penelitian deskriptif, yaitu untuk menguji aktivitas sitotoksik ekstrak maupun fraksi dari umbi tumbuhan temu giring (*Curcuma hyenana*) dan temu ireng (*C. aeruginosa*) terhadap sel line kanker seperti *Breast carcinoma (MCF-7)* dan *Cervical carcinoma (Ca Ski)*.

Subyek penelitian ini umbi tumbuhan temu giring (*Curcuma hyenana*) dan temu ireng (*C. aeruginosa*). Objek penelitian ini adalah aktivitas sitotoksik terhadap sel lines

kanker seperti *Breast carcinoma (MCF-7)* dan *Cervical carcinoma (Ca Ski)*.

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

- Evaporator Buchi Rotavapor R-114
- Ekstraktor
- Peralatan gelas, seperti corong pemisah, erlemeyer, gelas ukur
- CO₂ inkubator
- ELISA reader
- Fluorecent plate reader
- Tissue culture flask, 10 cm²
- 96 well microtiter plates

Sedangkan bahan yang digunakan adalah

- Pelarut yang digunakan untuk ekstraksi dan fraksinasi metanol, *n*-heksan, etil asetat, kloroform dengan kualitas tenis dan p.a.
- Sampel umbi temu giring (*Curcuma hyenana*) dan temu ireng (*C. aeruginosa*)
- Sel line kanker *Breast carcinoma (MCF-7)* dan *Cervical carcinoma (Ca Ski)*
- Bahan yang diperlukan untuk kultur *Breast carcinoma (MCF-7)* dan *Cervical carcinoma (Ca Ski)*, beberapa reagent seperti larutan pencuci (99% RPMI (Gibco), 1% pensrep, (Gibco); media penyimpanan -70 °C (20% FBS (Gibco), 70% RPMI yang mengandung 1% penstrep dan 1% fungizon, 10% DMSO); Media kultur (89% RPMI, 1% penstrep,

10% FBS); kertas filter nitroselulosa 0,22 µm (Whatman)); bahan pewarna biru tripan (Sigma)); larutan MTT (3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolium bromida (Sigma) dilarutkan dalam PBS dengan konsentrasi 5 mg/ml; pelarut formazan (10% SDS dalam 0,01 N asam klorida).

- Reagent uji aktivitas seperti medium RPMI 1640, propidium iodida, andriamicin, cis plantin, 5-fluouracil, mitomicin C, deionized water, MTT cell proliferation kit, bovine serum, actin.
- Nitrogen cair

Prosedur kerja yang dilakukan adalah sebagai berikut:

1. Ekstraksi dan fraksinasi senyawa kimia dari umbi tumbuhan temu giring dan temu ireng

Ekstraksi senyawa kimia dari bahan tumbuhan dilakukan dengan cara maserasi dengan pelarut metanol umbi temu giring (*Curcuma hyenana*) dan temu ireng (*C. aeruginosa*). Ekstrak yang diperoleh dipekatkan pada tekanan rendah dan selanjutnya dipartisi berturut-turut menggunakan pelarut *n*-heksan, kloroform, dan etil asetat. Ekstrak dan masing-masing fraksi selanjutnya dikinginkan untuk di uji aktivitas sitotoksiknya terhadap sel kanker.

2. Uji aktivitas sitotoksisitas terhadap beberapa sel line kanker

a) Menumbuhkan *cell lines* kanker (*Breast carcinoma (MCF-7)* dan *Cervical carcinoma (Ca Ski)* dari penyimpanan dalam nitrogen cair

Sel beku dari nitrogen cair dibiarkan pada suhu kamar sampai mencair sebagian, kemudian dimasukkan dalam tabung konikal 50 ml dan ditambah 50 ml media RPMI lalu dikocok. Setelah itu disentrifus 275 g selama 10 menit. Sel kemudian diinkubasi pada suhu 37°C dengan aliran CO₂ 5%. Perkembangan sel diamati tiap hari dan jika media mulai menguning diganti dengan media baru, jumlah sel dihitung dengan *Nebauer Hemocytometer* dengan pewarna biru tripan (Mosmann, T.1983).

b) Uji sitotoksisitas dilakukan dalam plate 96 sumuran.

Sampel dilarutkan dalam buffer fosfat atau pelarut yang sesuai. Setiap sumuran

dimasukkan 100 µl media RPMI yang mengandung penstrep 4 %, 100 µl sampel pada variasi konsentrasi 25 µg sampai 0,05 µg, kemudian ditambah 100 µl kontrol sel dalam media kultur dengan jumlah sel 5 x 10⁴ setiap sumuran. Sebagai blanko digunakan dilusi seri buffer kalium fosfat 5 mM pH 7,2 sebanyak 100 µl pada sumuran pertama, dan setiap sampel dilakukan dua ulangan. Pada akhir inkubasi ditambahkan MTT (50 µg/ml) sebanyak 10 µl pada masing-masing sumuran, kemudian diinkubasi kembali selama 4 jam. Sel yang hidup akan bereaksi dengan MTT membentuk formazan yang memberikan warna ungu. Reaksi dihentikan dengan menambahkan 100 µl SDS 10% dalam HCl 0.01 N, kemudian diinkubasi pada suhu kamar semalam kemudian dibaca dengan *Benchmark microplate reader* pada panjang gelombang 595 nm. Viabilitas sel dihitung dengan rumus:

$$\% \text{ sel hidup} = (\text{abs P} - \text{abs M}) / (\text{abs K} - \text{abs M}) \times 100\%$$

abs P = absorbansi sel dengan perlakuan

abs M = absorbansi media

abs K = absorbansi kontrol sel

Nilai IC₅₀ ditentukan dengan analisis probit pada program SPSS 11.5.

HASIL DAN PEMBAHASAN

1. Hasil ekstraksi sampel tumbuhan

Bahan tumbuhan yang berupa serbuk kering umbi tumbuhan temu ireng dan temu giring masing-masing sebanyak 3 Kg, masing-masing dimasukkan ke dalam jerigen plastik ukuran 20 L, dan ditambahkan pelarut

metanol sebanyak 7-10 L, selanjutnya di-rendam selama 24 jam. Ekstrak dari masing-masing sampel selanjutnya disaring dan dikumpulkan filtratnya. Residu selanjutnya di-maserasi kembali menggunakan metanol, dan diulang seperti prosedur sebelumnya sebanyak 2 kali. Filtrat yang diperoleh dari masing-masing sampel tumbuhan selanjutnya dipekatkan menggunakan evaporator vakum.

Ekstrak pekat dari masing-masing tumbuhan selanjutnya di partisi berturut-turut menggunakan pelarut n-heksan, kloroform, dan etil asetat. Ekstrak hasil partisi selanjutnya dipekatkan dengan evaporator vakum, sehingga diperoleh ekstrak kental. Hasil ekstraksi dan partisi dari masing-masing tumbuhan di sajikan dalam Tabel 1.

Tabel 1. Hasil ekstraksi dan partisi dari sampel umbi tumbuhan temu ireng dan temu giring

No	Sampel tumbuhan (berat Kg)	Berat ekstrak (gr)			
		Metanol kental	n-heksan	Kloroform	Etil asetat
1	Temu ireng (3 kg)	230	40	85	-
2	Temu giring (3 kg)	150	45	35	86

2. Hasil uji sitotoksisitas ekstrak dan fraksi-fraksi terhadap beberapa cell lines kanker

Cell lines kanker yang digunakan dalam penelitian ini meliputi *Breast carcinoma*

(*MCF-7*) dan *Cervical carcinoma (Ca Ski)*; *Raji* dan *Hela-S3*. Hasil uji sitotoksisitas tersebut dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Hasil uji sitotoksisitas ekstrak dan fraksi-fraksi temu ireng dan temu giring terhadap beberapa cell lines kanker

No	Umbi tumbuhan	Ekstrak/Fraksi	IC ₅₀ (µg/ml)	
			MCF-7	Ca Ski
1	Temu Ireng	Metanol	> 100	95,73 ± 3,06
		Heksan	69,47 ± 2,16	66,02 ± 0,45
		Kloroform	92,60 ± 4,10	94,87 ± 1,94
2	Temu Giring	Metanol	61,63 ± 1,76	59,27 ± 2,67
		Heksan	69,00 ± 2,25	65,67 ± 2,16
		Kloroform	80,77 ± 2,51	83,33 ± 1,96
		Etil asetat	67,17 ± 0,42	67,98 ± 0,53

Ekstraksi senyawa aktif dari umbi tumbuhan temu giring dan temu ireng dilakukan dengan metanol, oleh karena

metanol merupakan pelarut universal yang banyak digunakan untuk memisahkan senyawa metabolit sekunder dari bahan alam.

Penggunaan metanol juga lebih menguntungkan, oleh karena pelarut ini mempunyai titik didih yang rendah, sehingga mudah diuapkan tanpa merusak senyawa aktif di dalamnya. Selanjutnya dari ekstrak metanol dilakukan partisi dengan menggunakan pelarut berturut-turut dengan kepolaran yang semakin naik adalah n-heksan, kloroform, dan etil asetat. Fraksinasi ini perlu dilakukan agar diperoleh kelompok senyawa dengan tingkat kepolaran yang relatif seragam, sehingga pada pemisahan lebih lanjut terhadap senyawa aktifnya akan lebih mudah dilakukan.

Dalam penelitian ini fraksi etil asetat dari temu ireng tidak diperoleh hasil, oleh karena jumlah senyawa yang terekstrak oleh pelarut ini sangat sedikit, sehingga diabaikan. Hal ini mungkin disebabkan dalam ekstrak metanol umbi temu ireng banyak mengandung senyawa yang kurang polar dibanding kepolaran etil asetat.

Uji aktivitas terhadap ekstrak maupun fraksi-fraksi dari umbi temu giring dan temu ireng terhadap *Breast carcinoma* (MCF-7) dan *Cervical carcinoma* (Ca Ski) menunjukkan aktivitas yang cukup baik (di bawah 100 µg/ml), kecuali ekstrak metanol temu ireng yang menunjukkan harga IC₅₀ di atas 100 µg/ml. Hal ini menunjukkan bahwa umbi tumbuhan temu ireng dan temu giring sangat berpotensi untuk dikembangkan sebagai obat anti kanker. Penelitian ini perlu

dilanjutkan untuk mengetahui struktur senyawa bioaktif yang terdapat dalam masing-masing ekstrak atau fraksi yang menunjukkan aktivitas tinggi.

KESIMPULAN

Sesuai dengan tujuan penelitian ini maka dapat disimpulkan bahwa uji aktivitas terhadap ekstrak maupun fraksi-fraksi dari umbi temu giring dan temu ireng terhadap *Breast carcinoma* (MCF-7); *Cervical carcinoma* (Ca Ski) menunjukkan aktivitas yang cukup baik (di bawah 100 µg/ml), kecuali ekstrak metanol temu ireng yang menunjukkan harga IC₅₀ di atas 100 µg/ml. Hal ini menunjukkan bahwa umbi tumbuhan temu ireng dan temu giring sangat berpotensi untuk dikembangkan sebagai obat anti kanker

DAFTAR PUSTAKA

- Cronquist A. (1981). *An Integrated System of Classification of Flowering Plants*, Columbia In Press, New York, 316 – 318
- Dharma AP., (1985), *Tanaman Obat Tradisional Indonesia*, P.N. Balai Pustaka, Jakarta, hal. 265-266.
- Dina Nawangningrum, Supriyanto Widodo, I Made Suparta, dan Munawar Holil, (2004), *Kajian terhadap naskah kuno Nusantara koleksi Fakultas Ilmu Pengetahuan Budaya Universitas Indonesia: Penyakit dan Pengobatan amuan Tradisional*, *MAKARA, SOSIAL HUMANIORA*, VOL. 8, NO. 2, AGUSTUS 2004: 45-53

Development of Active Compounds from Temu Giring (Curcuma Heyneana) and Temu Ireng (Curcuma Aeruginosa) Against Human Cancer Cell Lines (Sri Atun, Nurfina Aznam, Retno Arianingrum, Sri Nurestri)

Endah E.R., (2004), Uji aktivitas secara *in vitro* sediaan rebusan irisan rimpang temu ireng terhadap *Ascaridia galli*, Skripsi, Sekolah Farmasi ITB.

Heyne K. (1987), *Tumbuhan berguna Indonesia*, Badan Litbang Kehutanan, Jakarta, jilid III, 1390 – 1443

Mosmann, T., (1983), Rapid Colorimetric Assay for Cellular Growth and Survival: Application to Proliferation and Cytotoxicity Assays, *J. Immunol. Methods*, 65(1-2):55-63.

Morikawa T, Matsuda H, Ninomiya K, Yoshikawa M, (2002), Medicinal

Foodstuff XXIX. Potent protective effect of sesquiterpenes and curcumin from *Zedoria* rhizome on liver injury induced by D-galatosamin/lipopolysaccharide or tumor necrosis factor- α . *Biol. Pharm. Bull.* 25 (5) 627-631.

Sjamsul A.A; Hakim, E.H, Makmur L., Syah Y.M., Juliawaty L.D., Mujahidin D., (2007), *Ilmu Kimia dan Kegunaan Tumbuh-tumbuhan obat Indonesia*, Jilid I, Penerbit ITB.

Wu, Y., Chen, Y., Xu, J., and Lu L. 2002. Anticancer activities of curcumin on human Burkitt's lymphoma, *Zhonghua Zhong Liu Za Zhi*, 24(4), 348-352.