

Efek ekstrak etanol rimpang temu putih (*Curcuma zedoaria* Rosc.) terhadap pertumbuhan tumor paru fase post inisiasi pada mencit betina diinduksi Benzo[a]piren

Effect of *Curcuma zedoaria* Rosc. ethanolic extract on the lung tumor growth on post initiation phase in female mice induced by Benzo(a)pyrene

Retno Murwanti¹⁾, Edy Meiyanto²⁾, Arief Nurrochmad¹⁾, dan Susi Ari Kristina¹⁾

¹⁾ Bagian Farmakologi dan Farmasi Klinik, Fakultas Farmasi UGM

²⁾ Bagian Kimia Farmasi, Fakultas Farmasi UGM

Abstrak

Rimpang temu putih (*Curcuma zedoaria* Rosc) selama ini banyak digunakan masyarakat sebagai obat berbagai jenis kanker, namun penelitian dengan bukti-bukti ilmiah yang mendukung aksi temu putih belum pernah dilakukan. Penelitian ini ditujukan untuk mengetahui efek ekstrak etanol rimpang temu putih terhadap adanya tumor paru pada mencit betina yang diinduksi benzo[a]piren.

Anak mencit yang baru lahir diinduksi dengan benzo[a]piren, kemudian dipisahkan antara mencit jantan dan mencit betina. Pada hari ke-30 setelah kelahiran, mencit betina dibagi menjadi 5 kelompok, tiga kelompok diberi ekstrak etanol rimpang temu putih dengan kelompok dosis 250 mg/kgBB, 500 mg/kgBB dan 750 mg/kgBB, 2 kelompok sebagai kontrol pelarut DMSO dan kontrol positif kanker B[a]P.

Ekstrak etanol rimpang temu putih mampu menghambat pertumbuhan tumor paru pada mencit betina berturut-turut sebagai berikut: dosis 250 mg/kgBB (49,63%), dosis 500 mg/kgBB (73,33%), dan dosis 750 mg/kgBB (77,78%).

Kata kunci : *Newborn Mice*, Benzo[a]piren, *Curcuma zedoaria* Rosc.

Abstract

Curcuma zedoaria Rosc. rhizomes has been used as a traditional cancer medicine since a long time ago, but the so far researches performed on the pharmacological mechanism were lacking. This present research has been done to determine the effect of ethanolic extract of *Curcuma zedoaria* Rosc. rhizomes on lung cancer of female mice previously induced by Benzo[a]pyrene (B[a]P).

Newborn mice were induced by B[a]P and then were separated between male and female mice. On 30th day after birth, female mice were given the ethanolic extract of *Curcuma zedoaria* Rosc. rhizomes and divided into five groups. Three groups were given 200, 500 and 750 mg/kgBB extract, a group was given solvent (DMSO) as negative control, and another group was given nothing as positive control.

The results of this present research shown that the ethanolic extract of *Curcuma zedoaria* Rosc. rhizomes has proved to posses inhibition effect on

lung cancer growth in female mice, at dose of 250 mg/kgBB (49,63%), 500 mg/kgBB (73,33%) and 750 mg/kgBB (77,78%).

Keywords : Newborn Mice, Benzo[a]piren, *Curcuma zedoaria* Rosc.

Pendahuluan

Kanker termasuk penyebab utama kematian hampir di seluruh dunia. Dari tahun ke tahun jumlahnya meningkat baik di Jepang, Eropa, Amerika dan Indonesia. Di Indonesia kanker menduduki peringkat ke-3 atau ke-4 diantara keganasan penyakit di rumah-rumah sakit (Mariono *dkk*, 2002).

Telah diketahui faktor genetik memegang peranan penting pada perkembangan sel kanker. Selain itu, faktor kebiasaan hidup, usia, keadaan geografis juga ikut berperan dalam timbulnya penyakit kanker.

Kanker paru banyak terjadi karena pemaparan karsinogen yang terdapat dalam asap rokok. Asap rokok telah diketahui mengandung 20 jenis karsinogen, terutama polisiklik aromatik hidrokarbon (PAH) dan *tobacco-specific nitrosamine 4-(methylnitrosamino)-1-(pyridyl)-1-butanone* (NKK) (Minna *et al*, 2002).

Usaha-usaha pencegahan atau pengobatan kanker semakin penting mengingat frekuensi kejadiannya yang cukup tinggi. Usaha pencarian dan pemanfaatan obat tradisional sebagai upaya alternatif pengobatan kanker terus ditingkatkan. Salah satu obat tradisional yang banyak digunakan sebagai antikanker adalah temu putih. Telah diketahui kandungan kimia rimpang temu putih terdiri dari kurkuminoid, minyak atsiri, dan polisakarida. Kurkuminoid meliputi: kurkumin, demetoksikurkumin, bisdemetoksikurkumin dan 1,7-bis(4-hidroksifenil)-1,4,6-heptatrien-3-on (Syu *et al*, 1998; Jang *et al*, 2001).

Telah diteliti pula berbagai aktivitas farmakologi temu putih. Ekstrak etanol rimpang temu putih menunjukkan aktivitas menghambat sel-sel OVCAR-3, yaitu sel line kanker ovarium manusia (Syu *et al*, 1998). Kurkumin telah diteliti mampu menekan proliferasi sel kanker melalui mekanisme menginduksi apoptosis (Surh, 1999), menghambat enzim prostaglandin sintetase, biosintesis leukotrien, dan memblok aksi enzim arakidonat 5-lipooksigenase (Kiuchi, 1992). Minyak atsirinya yang terdiri dari monoterpen dan seskuioterpen menunjukkan efek antiinflamasi pada udem kaki tikus betina galur wistar yang diinduksi karagenan (Soewarni, 1997), juga mampu menghambat enzim siklooksigenase (Yoshioka *et al*, 1998), mempunyai aktivitas hepatoprotektor (*cit*

Windono *dkk*, 2002; Matsuda *et al*, 1998). Komponen terbesar dari rimpang temu putih, yaitu minyak atsiri mempunyai efek antiinflamasi yang berhubungan dengan efek antioksidan (Yoshioka *et al*, 1998).

Dari hasil penelitian yang ada, menarik untuk diadakan penelitian subklinis (*in vivo*) sehingga akan didapatkan hasil dan data ilmiah mengenai khasiat ekstrak tersebut.

Metodologi

Bahan

Bahan uji (rim pang temu putih) diperoleh dari daerah Kalibawang, Kab. Kulonprogo. Rimpang temu putih diiris tipis, dikeringkan dan dibuat ekstrak etanol. Identifikasi tanaman dilakukan di Bagian Biologi Farmasi UGM. Sebagai karsinogen digunakan benzo[a]piren B[a]P (Sigma Chemical. Co.). Formalin, akuades, dan DMSO. Sebagai subjek uji adalah mencit galur BALB/c umur 2 bulan sebagai induk yang diperoleh dari PT BIOFARMA.

Jalannya Penelitian

Anak mencit yang baru lahir dipisahkan dari induknya, dikelompokkan menjadi 5 kelompok. Empat kelompok disuntik secara i.p dengan benzo[a]piren dalam DMSO pada hari ke-1,8, dan 15 dengan dosis 0,2 μ mol, 0,4 μ mol, dan 0,8 μ mol. Volume maksimum tiap penyuntikan 20 μ L. Satu kelompok disuntik DMSO dengan dosis dan waktu yang sama dengan 4 kelompok lainnya. Pada umur 21 hari, mencit jantan dan betina dipisah, selanjutnya mencit betina diberi perlakuan dengan ekstrak pada hari ke 30. Kelompok I, II, dan III diberi ekstrak dengan dosis 250 mg/kgBB, 500 mg/kgBB, dan 750 mg/kgBB secara oral dengan frekuensi 2x seminggu selama 8 minggu. Kelompok IV sebagai kontrol positif kanker, dibiarkan sampai 8 minggu tanpa perlakuan ekstrak, kelompok V sebagai kontrol pelarut DMSO tanpa perlakuan ekstrak. Semua kelompok dibiarkan sampai umur mencit betina 5 bulan, dan dilakukan pengamatan makroskopis (jumlah nodul tumor di paru) serta mikroskopis dengan pemeriksaan histopatologis organ paru. Analisis data dengan uji non parametrik *Mann-Whitney*.

Hasil dan Pembahasan

Uji penghambatan karsinogenisitas B[a]P oleh ekstrak etanol rimpang temu putih dilakukan dengan mengorbankan mencit betina pada periode 4 bulan post induksi B[a]P dimana pada periode ini proliferasi sel-sel kanker sudah terlihat nyata dan jelas. Ekstrak diberikan selama 2 bulan post induksi, dimana diperkirakan mampu menghambat fase promosi dan fase progresi pada proses karsinogenesis. Namun pembedahan pada periode ini pertumbuhan tumor belum optimum sehingga jumlah tumor yang terhitung mungkin kurang dari yang seharusnya tumor terbentuk (Sugiyanto *dkk*, 1993).

Kontrol B[a]P memberikan prosentase kejadian tumor 100%, begitu pula dengan kelompok perlakuan B[a]P + obat dosis 250 mg/kgBB. Sedangkan kelompok B[a]P + obat dosis 500 mg/kgBB dan kelompok B[a]P + obat dosis 750 mg/kgBB masing-masing memberikan prosentase kejadian tumor 40% dan 66,67%.

Kontrol B[a]P dan kontrol DMSO tidak memberikan efek terhadap penghambatan tumor, dengan prosentase penghambatan tumor sebesar 0%. Pada perlakuan dosis I memberikan prosentase penghambatan 49,63%, dosis II sebesar 49,63%, dan dosis III sebesar 77,78% (gambar 1.).

Tabel I. Hasil uji penghambatan karsinogenisitas B[a]P oleh ekstrak etanol rimpang temu putih (*Curcuma zedoaria* Rosc.)

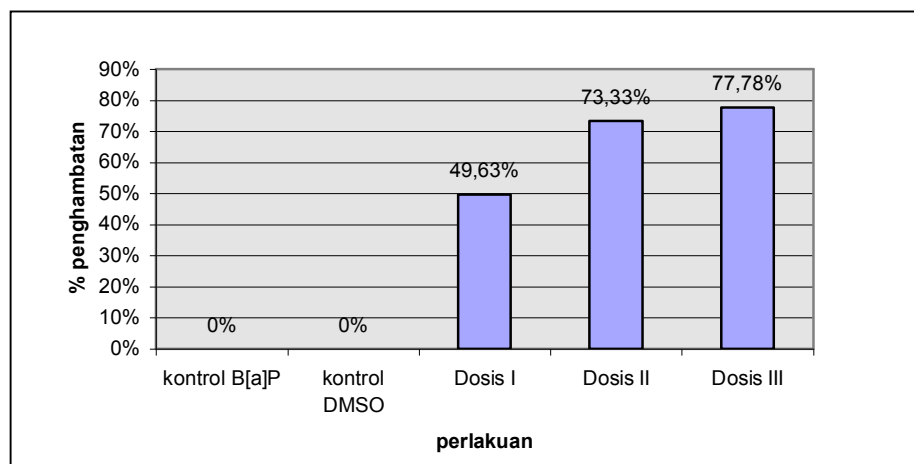
Kelompok	Jml mencit (ekor)	Jml mencit terkena tumor	Rata-rata nodul/paru \pm SE	% Kejadian Tumor	% penghambatan
Kontrol DMSO	5	0	-	0%	0%
Kontrol B[a]P	4	4	6,75 \pm 2,4622	100%	0%
B[a]P + Dosis I	5	5	3,40 \pm 0,7483	100%	49,63%
B[a]P + Dosis II	5	2	1,80 \pm 1,1136	40%	73,33%
B[a]P + Dosis III	6	4	1,50 \pm 0,5627	66,67%	77,78%

Keterangan :

Dosis I = pemberian ekstrak etanol rimpang temu putih 250 mg/kgBB

Dosis II = pemberian ekstrak etanol rimpang temu putih 500 mg/kgBB

Dosis III = pemberian ekstrak etanol rimpang temu putih 750 mg/kgBB



Gambar 1. Profil prosentase penghambatan terjadinya tumor karena induksi B[a]P dan perlakuan ekstrak etanol rimpang temu putih (*Curcuma zedoaria* Rosc.)

Tabel II. Hasil perhitungan uji *Mann-Whitney* dengan membandingkan masing-masing kelompok perlakuan

Kelompok (I)	Kelompok (J)	Signifikansi
Kontrol B[a]P	B[a]P + Dosis I	0,215 ^{tb}
Kontrol B[a]P	B[a]P + Dosis II	0,132 ^{tb}
Kontrol B[a]P	B[a]P + Dosis III	0,017 ^b
B[a]P + Dosis I	B[a]P + Dosis II	0,287 ^{tb}
B[a]P + Dosis I	B[a]P + Dosis III	0,093 ^{tb}
B[a]P + Dosis II	B[a]P + Dosis III	1,000 ^{tb}

Keterangan :

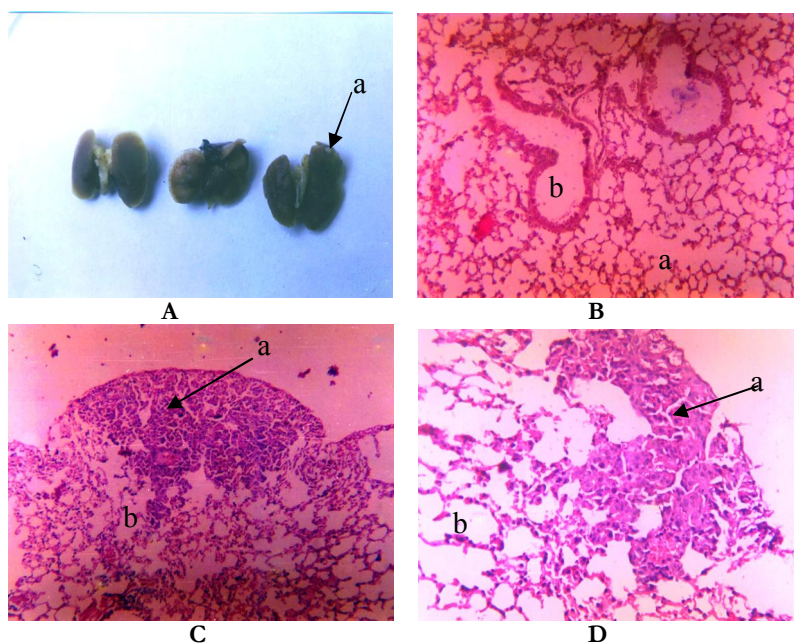
tb = berbeda tidak bermakna ($p > 0,05$)

b = berbeda bermakna ($p < 0,05$)

Dosis I = pemberian ekstrak etanol rimpang temu putih 250 mg/kgBB

Dosis II = pemberian ekstrak etanol rimpang temu putih 500 mg/kgBB

Dosis III = pemberian ekstrak etanol rimpang temu putih 750 mg/kgBB



Gambar 2. Gambaran gros patologi dan histopatologi organ paru.

Keterangan:

A = Gambaran gros patologi organ paru normal dan perlakuan. a.nodul tumor,

B = Gambaran histopatologi organ paru normal, pengecatan H.E., perbesaran 10x20, a. alveoli, b. bronkioli,

C = Gambaran histopatologi nodul tumor paru akibat induksi B[a]P, pengecatan H.E., perbesaran 10x20, a. sel tumor, alveoli normal,

D = Gambaran histopatologi nodul tumor paru akibat induksi B[a]P dan pemberian ekstrak etanol rimpang temu putih (*Curcuma zedoaria* Rose), pengecatan H.E., perbesaran 10x20, a. sel tumor, alveoli normal.

Tabel II memuat hasil analisis statistik jumlah nodul antara masing-masing perlakuan dengan uji non parametrik *Mann-Whitney*.

Dari analisis statistik di atas, hanya kelompok B[a]P dibandingkan dengan kelompok B[a]P + dosis 750 mg/kgBB yang memberikan perbedaan bermakna ($p < 0,05$). Sedangkan pada peringkat dosis 250, dan 500 mg/kgBB tidak memberikan hasil yang bermakna dalam menghambat proses karsinogenesis. Dari sini dapat disimpulkan bahwa perlu adanya peningkatan dosis ekstrak etanol rimpang temu putih untuk dapat menghambat terbentuknya tumor paru secara signifikan.

Gambaran gros patologi dan histopatologi tumor paru akibat induksi B[a]P dan pemberian ekstrak (gambar 2).

Temu putih sebagai bahan kemopreventif mampu menghambat pertumbuhan tumor paru pada mencit betina fase post inisiasi dengan kemungkinan mekanisme aksi menghambat enzim siklooksigenase-2 (COX-2), sebagai antioksidan (Yoshioka *et al*, 1998), senyawa antiproliferasi, dan pemacu apoptosis (Meiyanto, 1999; Surh, 1999; Grossman, 2000).

Sebagai inhibitor COX 2, kurkumin yang terdapat dalam temu putih, mampu menghambat produksi prostaglandin yang

berperan dalam peningkatan proliferasi, seperti yang terjadi pada kanker kolon maupun adenokarsinoma paru, sehingga dapat menghambat proliferasi sel kanker (Plummer *et al*, 2001). Kurkumin juga diketahui mampu menghambat aktivasi *Protein Kinase C* (PKC) yang berperan pada proses awal pembelahan sel (Meiyanto, 1999).

Senyawa diarilheptanoid dalam ekstrak etanol rimpang temu putih mampu menekan proliferasi sel melalui mekanisme menginduksi apoptosis (Surh, 1999), antara lain dengan memacu pengeluaran *cytochrom c* untuk keluar menuju sitoplasma dan kemudian berikatan dengan protein *Bax* sehingga selanjutnya terjadi aktivasi berantai terhadap caspase 9 dan caspase 3 hingga apoptosis terjadi (Meiyanto, 1999).

Kesimpulan

Ekstrak etanol rimpang temu putih mampu menghambat proses karsinogenesis pada mencit betina yang diinduksi benzo[a]piren secara signifikan pada dosis 750 mg/kgBB ($p < 0,05$).

Daftar Pustaka

- Grossman, E. M., Long, W. E., Panesar, N., Mazuski, J. E., Kaminsaki, D. L., 2000, The Role of Cyclooxygenase Enzymes in The Growth of Human Gall Bladder Cancer Cells, *Carcinogenesis*, **21**(7): 1403-1409.
- Jang, M. K., Sohn, D. H., Ryu, J. H., 2001, A Curcuminoid and Sesquiterpenes as Inhibitor of Macrophage TNF- α Release from *Curcuma zedoaria*, *Planta Med*, **67**: 550-552.
- Kiuchi, F, Iwakami, S., Shibuya, M., Hanaoka, F., Sankawa, U., 1992, Inhibition of Prostaglandin and Leukotriene Biosynthesis by Gingerols and Diarylheptanoids, *Chem. Pharm. Bull*, **40**(2): 387-391.
- Mariono, S. A., Jusuf, A., Kresno, S. B., 2002, Karakteristik Kandungan DNA dan Aktivitas Proliferasi Pada Kanker Paru di Jakarta, *Cermin Dunia Kedokteran*, **127**: 15-17.
- Matsuda, H., Ninomiya, K., Morikawa, T., Yoshikawa, M., 1998, Inhibitory Effect and Action Mechanism of Sesquiterpenes from *Zedoariae* Rhizoma on D-Galactosamine/Lipopolysaccharide-induced Liver Injury, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **17**;8(4): 339-344.
- Meiyanto, E., 1999, Kurkumin Sebagai Obat Kanker : Menelusuri Mekanisme Aksinya, *Majalah Farmasi Indonesia*, **10**(4): 227-229.
- Minna, John D., Jack A. Roth, and Adi F. Gazdar, 2002, Focus on Lung Cancer, *Cancer Cell*, **1**: 49-52.
- Plummer, S. M., Hill, K. a., Festing, M. F. W., Steward, W.P., Gescher, A. J., Sharma, R. A., 2001, Clinical Development of leucocyte Cyclooxygenase-2 Activity as a Systemic Biomarker for

- Cancer Chemopreventive Agents, *Cancer Epidemiology Biomarkers & Prevention*, **10**: 1295-1299.
- Soewarni M, 1997, Efek Antiradang Minyak Atsiri Temu Putih (*Curcuma zedoaria* Rosc., Zingiberaceae) terhadap Udem Buatan pada Tikus Putih Betina Galur Wistar, *Majalah Farmasi Indonesia*, **8(1)**: 34-41.
- Sugiyanto, Sudarto, B., dan Meiyanto, E., 1993, *Efek Penghambatan Karsinogenisitas Benzo(a)pirena Oleh Preparat Tradisional Tanaman Gynura Sp. dan Identifikasi Awal Senyawa yang Berkebasiat*, Laporan Penelitian P4M, Dirjen Dikti, Fakultas Farmasi, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.
- Surh, Y., 1999, Molecular Mechanisms of Chemopreventive Effects of Selected Dietary and Medicinal Phenolic Substances, *Br. J Cancer*, 80(1-2): 110-116.
- Syu, W. J., Shen, C. C., Don, M. J., Ou, J. C., Lee, G. H., Sun, C. M., 1998, Cytotoxicity of Curcuminoids and Some Novel Compounds from *Curcuma zedoaria*, *Journal of Natural Product*, **61(12)**: 1532-1534.
- Windono, M. S., dan Parfiati, N, 2002, *Curcuma zedoaria* Rosc., Kajian Pustaka Kandungan Kimia dan Aktivitas Farmakologik, *Artocarpus*, **2(1)** : 1-10.
- Yoshioka, T., Fujii, E., Endo, M., Hohsho, H., Shibuya, H., Uraki, T., 1998, Antiinflammatory Potency of Dehydrocurdione, A Zedoary-derived Sesquiterpene (Abstract), *Inflamm Res*, **47(12)**: 476-481.