

**UJI AKTIVITAS ANTIKANKER EKTRAK ETANOL  
RIMPANG TEMU PUTIH (*Curcuma zedoaria* (Christm.)  
Roscoe) DENGAN METODA *MICRONUCLEUS* ASSAY  
PADA MENCIT PUTIH JANTAN**

**SKRIPSI**



**Oleh:**

**RIZKY RAHMADHANI MUSLIM**

**14 04 089**

**SEKOLAH TINGGI FARMASI INDONESIA**

**YAYASAN PERINTIS**

**PADANG**

**2018**

## ABSTRAK

*Curcuma zedoaria* (Christm.) Roscoe atau yang lebih dikenal dengan rimpang temu putih merupakan tanaman yang memiliki banyak manfaat salah satunya sebagai antikanker yang dapat digunakan sebagai alternative dalam pengobatan kanker. Penelitian ini dilakukan untuk melihat efek antikanker ekstrak etanol rimpang temu putih *Curcuma zedoaria* (Christm.) Roscoe dengan menggunakan metode *micronucleus assay*. Pengujian dilakukan menggunakan hewan percobaan yang dikelompokkan menjadi 5 kelompok yang terdiri dari 2 kelompok kontrol dan 3 kelompok perlakuan. Ekstrak diberikan secara oral dalam bentuk suspensi selama 7 hari dengan variasi konsentrasi: 100 mg/Kg BB, 300 mg/Kg BB dan 1000 mg/Kg BB. Parameter yang diamati adalah jumlah sel mikronuklei pada sumsum tulang mencit putih jantan. Dosis 100 mg/kgBB, 300 mg/kgBB dan 1000 mg/kgBB secara berurutan mempunyai rata-rata hasil persentase jumlah mikronuklei 54,00%, 44,80% dan 30,40%. Dari tiga dosis ekstrak etanol rimpang temu putih yang diujikan, yang memberikan aktivitas antikanker terbaik adalah konsentrasi 300 mg/kgBB dengan jumlah sel mikronuklei dalam kelompok uji 44,80%. Pengujian menggunakan uji statistik ANOVA satu arah untuk melihat hubungan antara dosis dan jumlah mikronuklei, yang dilanjutkan dengan uji Duncan untuk melihat perbedaan dari masing-masing perlakuan. Hasil uji statistik menunjukkan bahwa ekstrak etanol rimpang temu putih memberikan aktivitas antikanker yang terlihat dari penurunan jumlah sel mikronuklei secara bermakna ( $P < 0,05$ ) serta dari perbedaan subset dari masing-masing perlakuan.

## ABSTRACT

*Curcuma zedoaria* (Christm.) Roscoe or better known as white tumeric rhizome is a plant that has many benefits which is one of them as anticancer that can be used to be cancer alternative treatments. This study was conducted to investigate the anticancer effect of the ethanol extract of *Curcuma zedoaria* (Christm.) Roscoe by using micronucleus assay method. Tests were conducted using experimental animals grouped into 5 groups consisting of 2 control groups and 3 treatment groups. The extract was orally administered in suspension form for 7 days with concentration variations: 100 mg / Kg BW, 300 mg / Kg BW and 1000 mg / Kg BW. The parameters observed were the number of micronucleus cells in the bone marrow of male white mice. Percentages number of micronucleus cells in dose 100 mg/kgBW, 300 mg/kgBW and 1000 mg/kgBW is 54.00%, 44.80% dan 30.40%. Based of the three concentrations of ethanol extract of temu putih rhizome tested, which gives the best anticancer activity is the dose of 300 mg /kgBW with the number of micronucleus cells 44.80%. The statistical test used a one-way ANOVA to see the relationship between dose and number of micronuclei, followed by Duncan's test to see the difference of each treatment. The results of statistical tests showed that the ethanol extract of temu putih rhizome gave anticancer activity which was seen from a significant decrease in the number of micronuclei cells ( $P < 0.05$ ) as well as from differences in subset of each treatment.

# **BAB I**

## **PENDAHULUAN**

### **1.1 Latar Belakang**

Kanker adalah segolongan penyakit yang ditandai dengan pembelahan sel yang tidak terkendali dan kemampuan sel-sel tersebut untuk menyerang jaringan biologis lainnya, baik dengan pertumbuhan langsung di jaringan yang bersebelahan (invasi) atau dengan migrasi sel ke tempat yang jauh (metastasis). Pertumbuhan yang tidak terkendali tersebut disebabkan kerusakan

DNA, menyebabkan mutasi di gen vital yang mengontrol pembelahan sel yang disebabkan oleh zat karsinogen (Khrisna & Makoto, 2000). Jika pertumbuhan sel yang tidak terkontrol ini menyebar ke seluruh bagian tubuh, maka hal ini dapat menyebabkan kematian (American Cancer Society, 2017). WHO menyatakan bahwa pada tahun 2030 akan terjadi lonjakan penderita kanker di Indonesia sampai tujuh kali lipat. Jumlah penderita kanker yang meninggal juga kian memprihatinkan (Anggraeni, 2017), hal ini karena sebagian besar penyakit kanker baru terdiagnosa setelah mencapai stadium akhir, dimana gejala sakit mulai terasa dan perkembangan jaringan tubuh baru mulai terlihat.

Pengobatan kanker yang dilakukan selama ini adalah dengan melakukan kemoterapi dan penggunaan obat sitotoksik serta pemberian kortikosteroid dosis tinggi yang umumnya memiliki sifat toksis yang tinggi. Untuk itu para peneliti mulai mencari alternatif lain dalam mengobati penyakit kanker, salah satunya adalah dengan pemberian obat herbal (Fudholi, 2012). Salah satu tumbuhan yang memiliki potensi untuk diteliti adalah rimpang temu putih (*Curcuma zedoaria* (Christm.) Roscoe) yang secara tradisional telah digunakan sebagai stimulan, karminativum, diuretik, antiemetik, antipiretik, antidiare, memperbaiki gangguan pencernaan, ulcer, luka (de Pandua *et al.* 1999). dan juga digunakan sebagai antitumor, antialergi dan agen antimikroba (Srividya *et al.* 2013). Rimpang temu putih dilaporkan mengandung senyawa-senyawa kurkuminoida seperti kurkumin, demetoksi-kurkumin, bisdemetoksi-kurkumin (Srividya *et al.*, 2013), diarilheptanoid (Park *et al.*, 2012), dan juga 5 seskuiterpen termasuk isoprocurcumenol, garmakron, curzerenon, curcumenol dan curcuzedoalid (Jung *et al.*, 2018).

Pada penelitian yang dilakukan oleh Jung *etal.*, (2018) secara *in vitro* terbukti bahwa ekstrak metanol rimpang temu putih dapat menghambat dan bahkan menginduksi kematian sel kanker AGS manusia secara independen. Selain itu Saefudinet *al.*, (2014) telah membuktikan aktivitas antioksidan dan antiproliferasi rimpang temu putih terhadap sel Hela secara *in vitro*. Juga telah dilakukan perbandingan genotoksisitas yang dihasilkan dari ekstrak hidro alkohol *Curcuma aromatic* Salisb, *Curcuma zedoaria* dengan kurkumin secara *in vitro* melalui *ames test*, *comet assay* dan *micronucleus assay* dengan menggunakan penginduksi metil metana sulfat. Dalam penelitian ini juga dijelaskan bahwa pengujian mikronukleus merupakan tes yang potensial dalam hal skrining toksikologi untuk senyawa genotoksik yang dapat dilakukan untuk pengujian secara *in vitro* dan *in vivo* sesuai dengan pedoman yang ada (Srividya *et al.*, 2013). Penelitian mengenai pengujian mikronukleus yang lain adalah penelitian yang dilakukan oleh Dalimunthe *et al.*, (2011) terhadap ekstrak etanol temu mangga dengan menggunakan penginduksi siklofosfamid dalam menguji aktivitas antikanker secara preventif dan kuratif, dimana pada pengujian secara *in vivo* ini menggunakan sumsum tulang femur mencit. Siklofosfamid yang digunakan dalam pengujian mikronukleus ini merupakan salah satu obat kanker yang bekerja pada siklus nonspesifik, sehingga pada dosis besar siklofosfamid ini dapat menimbulkan kerusakan pada sel normal, terutama jaringan yang mempunyai laju pembelahan sel yang tinggi seperti sum-sum tulang, saluran cerna, gonad, atau kulit (Mutschler, 1991).

Berdasarkan uraian diatas, terbukti bahwa rimpang temu putih memiliki banyak kandungan senyawa yang berpotensi sebagai antikanker. Penelitian

mengenai rimpang temu putih sebagai antikanker juga telah banyak ditemukan, tetapi penelitian mengenai aktivitas temu putih dalam menghambat atau mencegah pertumbuhan sel kanker menggunakan metoda *miconucleus assay* secara *in vivo* belum pernah dilakukan.

Karena itu peneliti tertarik untuk melakukan penelitian tentang pengujian aktivitas antikanker sebagai agen preventif ekstrak etanol rimpang temu putih (*Curcuma zedoaria* (Christm.) Roscoe) dengan menggunakan metoda *miconucleus assay* pada mencit putih jantan yang diinduksi siklofosamid. Pengamatan dilakukan dengan membandingkan jumlah sel eritrosit normal dengan sel mikronuklei pada preparat sumsum tulang femur dengan menggunakan minyak imersi untuk memperjelas pengamatan.

## **1.2 Rumusan Masalah**

1. Apakah ekstrak etanol rimpang temu putih (*Curcuma zedoaria* (Christm.) Roscoe) memiliki aktivitas antikanker sebagai agen preventif dengan metoda *miconucleus assay* pada mencit putih jantan.
2. Bagaimana pengaruh variasi dosis pemberian ekstrak etanol rimpang temu putih (*Curcuma zedoaria* (Christm.) Roscoe) terhadap aktivitas antikanker sebagai agen preventif dengan metoda *miconucleus assay* pada mencit putih jantan.

## **1.3 Tujuan Penelitian**

1. Mengetahui aktivitas antikanker sebagai agen preventif ekstrak etanol rimpang temu putih (*Curcuma zedoaria* (Christm.) Roscoe) dengan metoda *miconucleus assay* pada mencit putih jantan.
2. Menganalisa pengaruh variasi dosis dari ekstrak etanol rimpang temu putih (*Curcuma zedoaria* (Christm.) Roscoe) terhadap aktivitas antikanker

sebagai agen preventif dengan metoda *miconucleus assay* pada mencit putih jantan.

#### **1.4 Manfaat Penelitian**

1. Penelitian ini diharapkan dapat menjadi sumbangan ilmiah berupa pengembangan pemanfaatan ekstrak etanol rimpang temu putih(*Curcuma zedoaria* (Christm.) Roscoe) sehingga dapat menjadi landasan untuk lebih lanjut pada manusia.
2. Menambah divertifikasi pemanfaatan atau penggunaan ekstrak etanol rimpang temu putih(*Curcuma zedoaria* (Christm.) Roscoe) sebagai agen preventif dalam pencegahan kanker.
3. Melengkapi data farmakologis dari ekstrak etanol rimpang temu putih(*Curcuma zedoaria* (Christm.) Roscoe).

## **BAB II**

### **TINJAUAN PUSTAKA**

#### **2.1 Tinjauan Botani Temu Putih (*Curcuma zedoaria* (Christm.) Roscoe)**

##### **2.1.1 Klasifikasi *Curcuma zedoaria* (Christm.) Roscoe**

Klasifikasi dari tumbuhan *Curcuma zedoaria* (Christm.) Roscoe adalah sebagai berikut (Badan POM RI, 2010) :

Divisi : Magnoliophyta

Kelas : Liliopsida

Ordo : Zingiberidae

Subfamili : Zingiberales  
 Famili : Zingiberaceae  
 Genus : *Curcuma*  
 Spesies : *Curcuma zedoaria* (Christm.) Roscoe

### 2.1.2 Nama Daerah

Kunyit putih, temu putih, atau koneng bodas (Dalimartha, 2005). Selain dari Indonesia, temu putih juga memiliki nama lain di berbagai negara, seperti yang tercantum pada tabel I.

**Tabel I.** Nama temu putih di berbagai negara

<b>Negara</b>	<b>Nama Temu Putih</b>
Indonesia	Kunyit putih, temu putih, kunir putih
Belanda	Maagwortel, zedoarwortel
Inggris	White turmeric, setwall, zedoary turmeric, zedoary
Prancis	Zedoire, rhizome de zedoire
Jerman	Zitwer
<b>Negara</b>	<b>Nama Temu Putih</b>
India	Kachur, amb halad, gandhmul
Hongaria	Feher kurkuma, zedoaria-gyoker, citvor
Italia	Zedoaria, radice di curcuma, zedoaria lunga
Laos	Khi min khay
Spanyol	Cedoaria, cetoal
Thailand	Kha min khao, khamin khun, khamin oi
Arab	Gadwar, satwal, zadwar
Cina	E zhu, e shu, yu jin (medicinal name)
Malaysia	Temu kuning, temu puteh
Nepal	Kacur, van haledo
Portugis	Zedoaria
Turki	Cevdar, gulpa hamar

Vietnam	Bong truat, ngai tim, nga truat, tam nai
---------	--

Sumber : (Syukur, 2003)

### 2.1.3 Morfologi

Bunga majemuk susunan bulir, di ketiak rimpang primer, tangkai berambut. Daun pelindung berjumlah banyak, hijau atau hijau dengan garis tepi ungu, seludang bunga dan daun pelindung rata-rata 3-8 x 3,5-5 cm, bulu daun pelindung berwarna ungu atau merah muda gelap. Daun kelopak 3, putih atau kekuningan, bagian tengah merah atau coklat kemerahan, panjang 3-4 cm. Daun mahkota 3, putih kekuningan, tinggi rata-rata 4,5 cm. Bibir membulat atau bulat telur terbalik, ujung berlekuk 3, kekuningan dengan pita kuning gelap dibagian tengah, ukuran 14-18 x 14-20 mm. Benang sari 1, tidak sempurna, bulat telur terbalik, kuning terang. Ukuran 12-16 x 10-115 mm; tangkai benang sari terlipat membujur, ukuran 3-5 x 2-4 mm, putih kekuningan; kepala sari putih dengan tali panjang, panjang 6 mm. Buah berambut, rata-rata 2 cm. Daun tunggal, pelepah daun membentuk batang semu, berwarna hijau dengan pita ungu sepanjang tulang daun, helaian 2-9 buah, bentuk lanset memanjang, ukuran 25-75 x 7-20 cm, ujung runcing-meruncing, berambut tidak nyata, hijau atau hijau dengan bercak coklat ungu di tulang daun pangkal. Batang semu, warna coklat muda sampai coklat tua, didalamnya putih atau putih kebiruan, rimpang bulat dan aromatis. Herba setahun, tinggi dapat lebih dari 2 m. Waktu berbunga Agustus-Mei. (Badan POM RI, 2010)

### 2.1.4 Kegunaan *Curcuma zedoaria* (Christm.) Roscoe

Setiap bagian dari kunyit putih ini memiliki fungsi yang berbeda dalam penggunaan secara tradisional, seperti tercantum pada tabel II.

**Tabel II.** Kunyit putih beserta fungsinya

<b>Bagian Kunyit Putih</b>	<b>Fungsi</b>
Minyak dari rimpang	Mual, muntah, peluruh haid
Akar	Mengatasi keputihan
Batang	Pengobatan kecacingan pada anak
Rimpang bentuk bubuk	Antialergen
Daun (jus)	Pengobatan lepra
Daun	Pengobatan furunculosis

Sumber : (Putri, 2014)

## **2.2 Tinjauan Kimia**

Dalam buku Monografi Ekstrak Tumbuhan Obat Indonesia edisi revisi Volume 1 yang di keluarkan oleh Badan POM RI, (2010) dikatakan bahwa kandungan kimia yang terdapat dalam ekstrak temu putih adalah seskuiterpen, furanoiden, furanodienon, zedoaron, kurzerenon, kurzeon, germakran, 13-hidroksi germakran, dihidrokurdion, kurkumenon, zedoarenodiol, kurkumanolida A, B, fenil propanoid: etilparametoksisinamat,  $\alpha$  dan  $\beta$ -turmeron; kurkuminoid: kurkumin, bisdemetoksi kurkumin; tetrahidrodemetoksi kurkumin, tetrahidrobisdemetoksi kurkumin; fitosterol: sitosterol dan stigmasterol; minyak atsiri: epikurzerenon, kurzeren, 1,8-sineol, simen,  $\alpha$ -felandren,  $\beta$ -eudesmol. Selain itu rimpang temu putih juga mengandung flavonoid, sulfur, gum, resin, tepung dan sedikit lemak (Dalimartha, 2003).

Rimpang temu putih juga dilaporkan mengandung diarilheptanoid (Park *et al.*, 2012), dan juga 5 seskuiterpen termasuk isoprocurcumenol, garmakron, curzerenon, curcumenol dan curcuzedoalid (Jung *et al.*, 2018). Dan pada penelitian Syamsir *et al.*, (2017) didapatkan data mengenai kandungan minyak

atsiri antara *Curcuma zedoaria* yang tumbuh di Malaysiadan Indonesia seperti yang tercantum pada tabel III.

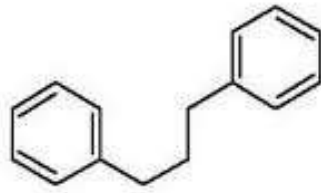
**Tabel III.** Perbandingan kandungan minyak atsiri antara *Curcuma zedoaria* yang tumbuh di Malaysiadan Indonesia

Compunds	RI	Area (%) <sup>a,b</sup>	
		Malaysian <i>C. zedoaria</i> oil	Indonesian <i>C. zedoaria</i> oil
Camphene	960	1.0 ± 0.07	2.5 ± 0.33
β-Pinene	989	t	0.6 ± 0.41
1,8-Cineole	1044	1.1 ± 0.08	8.4 ± 1.20
Camphor	1155	17.6 ± 0.19	19.7 ± 3.05
Isoborneol	1167	5.1 ± 0.03	5.1 ± 0.69
Borneol	1176	2.0 ± 0.01	2.5 ± 0.49
α-Terpineol	1204	t	1.3 ± 0.24
β-Elemene	1402	3.9 ± 0.01	t
α-Curcumene	1494	3.7 ± 0.55	3.9 ± 1.10
α-Selinene	1501	t	1.5 ± 0.27
Curzerene	1509	1.7 ± 0.17	t
β-Caryophyllene oxide	1599	t	2.3 ± 0.33
Curzerenone	1620	10.2 ± 0.06	7.4 ± 1.25
Spathulenol	1645	1.8 ± 0.28	5.0 ± 0.65
β-Eudesmol	1668	5.4 ± 0.03	5.6 ± 1.12
ar-Turmerone	1686	6.1 ± 0.51	2.0 ± 0.40
Compunds	RI	Area (%) <sup>a,b</sup>	
		Malaysian <i>C. zedoaria</i> oil	Indonesian <i>C. zedoaria</i> oil
Germacrone	1713	3.0 ± 0.09	4.4 ± 0.08
Zerumbone	1752	17.2 ± 0.12	12.1 ± 1.28
α-Cuparenol	1765	4.1 ± 0.75	8.9 ± 1.53
Benzyl benzoate	1780	4.3 ± 0.09	t
Isovelleral	1810	6.6 ± 0.52	2.5 ± 0.74
Monoterpene hydrocarbons		1.0 %	3.1 %
Oxygenated monoterpenes		25.8 %	37.0 %
Sesquiterpene hydrocarbons		7.6 %	5.4 %
Oxygenated sesquiterpene		56.1 %	50.2 %
Non-terpenes		4.3 %	t
Total		94.8 %	95.7 %

Sumber: (Syamsir et al., 2017)

## 2.2.1 Flavonoid

### 2.2.1.1 Monografi



**Gambar 1.** Struktur Flavonoid(Astuti, 2011)

Senyawa-senyawa flavonoid adalah senyawa-senyawa polifenol yang mempunyai kerangka dasar karbon yang terdiri dari 15 atom karbon, yang tersusun dalam konfigurasi  $C_6C_3C_6$ . Terdiri dari 2 cincin aromatik yang dihubungkan oleh tiga buah karbon (Markham, 1988). Adanya gula yang terikat pada flavonoid menyebabkan flavonoid lebih mudah larut dalam air, sedangkan aglikon yang kurang polar seperti flavon yang termetoksilasi cenderung lebih mudah larut dalam pelarut non polar seperti eter dan kloroform (Harborne, 1987).

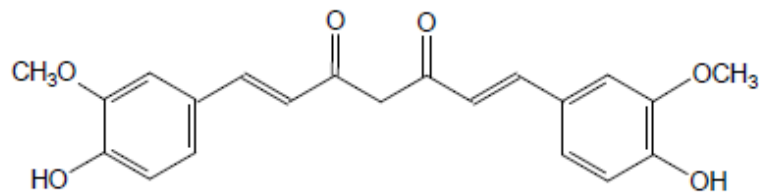
Flavonoid merupakan golongan senyawa bahan alam dari senyawa fenolik yang merupakan pigmen tumbuhan. Saat ini lebih dari 6.000 senyawa yang berbeda masuk dalam golongan flavonoid. Flavonoid merupakan bagian penting dari diet manusia karena banyak manfaatnya bagi kesehatan. Fungsi kebanyakan flavonoid dalam tubuh manusia adalah sebagai antioksidan sehingga sangat baik untuk pencegahan kanker karena dapat menetralkan senyawa-senyawa radikal. Flavonoid berperan untuk melindungi struktur sel, memiliki hubungan sinergis dengan vitamin C (meningkatkan efektivitas vitamin C), antiinflamasi, mencegah keropos tulang, dan sebagai antibiotik (Heinrich *et al*, 2010).

### **2.2.1.2 Identifikasi**

Sebanyak  $\pm$  4 gram sampel dipotong halus dan dididihkan dalam 25 ml etanol, saring selagi panas. Filtrat yang didapatkan diuapkan sampai setengahnya, kemudian ditambahkan asam klorida pekat 0,1 ml dan sedikit serbuk logam Mg. Adanya flavonoid ditandai dengan timbulnya warna orange sampai merah (Harborne, 1987).

## 2.2.2 Kurkumin

### 2.2.2.1 Monografi



**Gambar 2.** Struktur Kurkumin (Nurrochmad, 2004)

Kurkumin merupakan salah satu produk senyawa metabolit sekunder dari tanaman Zingiberaceae, khususnya kunyit, temu putih dan temulawak yang telah dimanfaatkan dalam industri farmasi, makanan, parfum, dan lain-lain. Ada banyak data dan literatur yang menunjukkan bahwa kunyit dan temulawak berpotensi besar dalam aktifitas farmakologi yaitu anti inflamasi, anti imunodefisiensi, anti virus (virus flu burung), anti bakteri, anti jamur, anti oksidan, anti karsinogenik dan antiinfeksi (Joe, Vijaykumar, & B.R.Lokesh, 2004).

Senyawa kurkumin ini, seperti halnya senyawa kimia lain seperti antibiotik, alkaloid, steroid, minyak atsiri, resin, fenol dan lain-lain merupakan hasil metabolit sekunder suatu tanaman. Tanaman obat dan

aromatik dapat menghasilkan senyawa metabolit sekunder bernilai ekonomi tinggi, seperti inblastina/vinkristina pada tanaman tapak dara (*Vinca rosea*), kinina pada tanaman kina (*Cinchona sp.*), kodeina, yasmin pada tanaman melati (*Jasminum sambac*), piretrin pada tanaman Piretrum (*Pyrethrum pelargonium*) dan spearmint pada tanaman mentha (*Mentha sp.*) (Haris, 1989).

#### **2.2.2.2 Identifikasi**

Ekstrak kasar yang diperoleh dari sokletasi, selanjutnya ditotolkan pada pelat KLT silika gel F254 (Merck) lalu dielusi. Eluen yang digunakan adalah campuran kloroform dan etanol dengan perbandingan 95 :5 (v/v). Analisis ini dilakukan dengan menyertakan curcumin standar sebagai pembanding. Pola pemisahan yang dihasilkan dibandingkan dengan literatur (Roviati, 2010)

### **2.3 Tinjauan Farmakologi**

Aktivitas farmakologi temu putih telah banyak diteliti. Tanaman herbal ini mengandung senyawa kimia seperti kurkuminoid, minyak atsiri, astrigensia, flavonoid, sulfur, gum, resin, tepung, sedikit lemak. Selain itu *Curcuma zedoaria* mengandung alkaloid, phenol, saponin, glikosida, steroid, terpenoid, dan kandungan lain yang diduga dapat digunakan sebagai antimikroba, antifungal, antikanker, antialergi, antioksidan, dan analgesik. Kunyit putih dapat membantu proses penyembuhan kanker karena mengandung senyawa seperti, *ethyl p-methoxycurcumin*, kurkuminoid, *bisdemothxycurcumin*, flavonoid, dan demothxycurcumin yang didapatkan dari ekstrak etanol (Putri, 2014).

Ekstrak etanol rimpang temu putih secara *in vitro* 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 memblokir aksi enzim arakidonat 5-lipooksigenase (Kiuchi *et al.*, 1992).

Dikatakan juga bahwa temu putih mampu menghambat enzim siklooksigenase (Yoshioka *et al.*, 1998), mempunyai aktivitas hepatoprotektor (Matsuda, Ninomiya, Morikawa, & Yoshikawa, 1998; Windono & Parfiati, 2002). Kandungan minyak atsiri, *epicurzerenone*, dan *curdione* pada *Curcuma zedoaria* ditemukan memiliki efek dalam menghambat sel promyelocytic leukemia HL-60. Kandungan *isocurcumenol* yang terdapat pada rimpang tumbuhan ini pun dapat digunakan sebagai antitumor pada paru-paru, menghambat sel karsinoma nasofaring, sel leukemia, dan sel limfoma (Putri, 2014).

## **2.4 Tinjauan Farmasetik**

Pada umumnya, penggunaan temu putih untuk pengobatan penyakit dilakukan dengan campuran berbagai bahan lain. Berikut ini beberapa ramuan temu putih dan campuran bahan lain (Syukur, 2003).

1. Bahan yang digunakan adalah tepung temu putih sebanyak 1 sendok teh dan tepung benalu teh sebanyak 1 sendok teh. Cara membuatnya adalah dengan mencampur semua bahan dan seduh dengan ½ gelas (100 cc) air panas. Minum hanya airnya. Ramuan ini diminum selama 30 hari atau sampai ada

perubahan ke arah membaik. Sebagai tambahannya dapat memakan papaya secara teratur.

2. Untuk diare dapat diobati dengan ekstrak jus dari rimpang temu putih. Jus ini dibuat dari 5 jari rimpang temu putih segar yang ditambah 1 gelas air matang. Jus temu putih ini dapat diminum dua kali sehari, sebanyak satu sendok teh selama tiga hari berturut-turut.

Selain dari ekstrak jus, diare juga dapat diobati dengan tepung dan rimpang kering temu putih. Caranya, tepung temu putih sebanyak 1 sendok teh dimasak dengan nasi (*rice pudding*) sebagai penambah aroma. Cara ini dilakukan di India.

## **2.5 Metoda Ekstraksi**

Ekstraksi adalah kegiatan penarikan kandungan kimia yang dapat larut sehingga terpisah dari bahan yang tidak dapat larut dengan pelarut cair. Senyawa aktif yang terdapat dalam berbagai simplisia dapat digolongkan kedalam golongan minyak atsiri, alkaloid, flavonoid dan lain-lain. Diketahuinya senyawa aktif yang dikandung simplisia akan mempermudah pemilihan pelarut dan cara ekstraksi yang tepat. Simplisia yang lunak seperti rimpang dan daun karena itu pada proses ekstraksi tidak perlu diserbuk sampai halus. Simplisia yang keras seperti biji, kulit kayu dan kulit akar susah diserap oleh pelarut karena itu perlu diserbuk sampai halus (Departemen Kesehatan RI, 2000).

Beberapa metode ekstraksi yang dapat digunakan untuk memperoleh ekstrak komponen suatu sampel, yaitu metode maserasi, refluks, dan soklet. Maserasi dilakukan dengan cara merendam sampel, yaitu rimpang halus ke dalam suatu pelarut. Keuntungan menggunakan maserasi dalam memperoleh ekstrak

dibandingkan dengan metode refluks atau soklet, yaitu maserasi dapat digunakan untuk mengekstrak komponen sampel yang tahan maupun tidak tahan panas. Ekstraksi menggunakan refluks atau soklet dikhawatirkan akan merusak komponen sampel yang dianalisis akibat pemanasan. Maserasi adalah proses penyarian simplisia dengan perendaman menggunakan pelarut dengan pengadukan pada temperatur kamar (Departemen Kesehatan RI, 2000).

## **2.6 Kanker**

### **2.6.1 Pengertian Kanker**

Tumor adalah istilah umum untuk menunjukkan adanya pertumbuhan tidak normal suatu massa atau jaringan. Tumor terbentuk karena adanya mutasi pada biosintesis sel, yaitu kekeliruan DNA karena terpotong, tersubstitusi, atau ada pengaturan kembali, adanya penambahan dan penggabungan bahan genetik virus baru ke dalam gen sel, dan adanya perubahan ekspresi gen. Tumor yang membahayakan (*malignant tumor*) disebut kanker (Siswandono & Soekardjo, 1995).

Kanker adalah sekelompok penyakit yang disebabkan oleh sel-sel abnormal yang tumbuh dan berkembang biak secara cepat dan tak terkendali. Kelompok sel ini yang akhirnya menyerang dan merusak jaringan tubuh yang sehat (Wijayakusuma, 1997). Sementara itu menurut Schunaket *al.*,(1990) kanker ialah pembentukan baru jaringan ganas dari sel tubuh yang sebelumnya normal. Ciri utamanya adalah perubahan yang diatur sendiri, lepas dari mekanisme pengendalian yang lebih tinggi pada organisme yang bersangkutan. Sel normal hanya membelah diri jika diperlukan, seperti untuk mengganti sel yang mati dan rusak. Sebaliknya, sel kanker akan membelah diri meskipun tak diperlukan

sehingga terbentuk sel-sel baru yang berlebihan yang mempunyai sifat seperti induknya yang sakit. Pada kasus kanker, ada indikasi terjadinya peradangan akibat aktivitas sel kanker memasuki jaringan melalui pembuluh darah. Kondisi tersebut memicu terjadinya perdarahan dan infeksi (Schunak et al., 1990).

### **2.6.2 Penyebab Kanker**

Pada hampir semua kasus kanker disebabkan oleh mutasi atau aktivasi abnormal gen seluler yang mengendalikan pertumbuhan sel dan mitosis sel. Gen abnormal disebut onkogen. Didalam semua sel juga ditemukan antionkogen, yang menekan aktivasi dari onkogen tertentu. Oleh karena itu hilangnya atau inaktivasi dari antionkogen dapat memungkinkan aktivasi dari onkogen dan mengarah kepada kanker. Pada keadaan normal alasan mengapa dalam tubuh kita tidak dihasilkan berjuta-juta sel mutasi yang cenderung seperti kanker, adalah karena adanya suatu ketelitian yang luar biasa dimana rantai kromosom DNA direplikasi dalam setiap sel sebelum mitosis berlangsung dan juga karena proses koreksi cetakan akan memotong dan memperbaiki setiap rantai DNA abnormal sebelum proses mitosis diizinkan berlanjut. Jadi kita dapat beranggapan bahwa sejumlah besar kanker hanya merupakan hasil dari suatu keadaan yang tidak menguntungkan (Guyton & Hall, 1997).

Banyak senyawa karsinogen tidak mempunyai aktivitas sendiri dan baru aktif setelah mengalami biotransformasi menjadi zat penyebab kanker sesungguhnya, yaitu karsinogen ultimal. Senyawa semacam ini disebut prakarsinogen atau kanserogen sekunder.

Beberapa bahan yang diduga sebagai penyebab terbentuknya sel kanker adalah (Mutschler, 1991):

### 1. Hidrokarbon aromatik polisiklik

Yang termasuk hidrokarbon aromatik polisiklik yang bersifat karsinogen adalah antara lain benzo(a)piren, 3-metilcholantren, benzantracen dan dibenzantracen.

### 2. Amina aromatik

Sama halnya dengan hidrokarbon aromatik polisiklik, amina aromatik seperti difenilamina, benzidin,  $\beta$ -naftilamina, dan 2-asetilaminofluoren (2-fluorenilasetamida) merupakan karsinogen sekunder

### 3. Senyawa N-Nitroso

Senyawa N-Nitroso ini terdapat dalam makanan (terutama dalam makanan yang diawetkan dengan pengasapan) serta dalam asap tembakau. Senyawa ini terbentuk dari amina sekunder atau amida dan nitrit.

### 4. Senyawa pengalkilasi

Senyawa pengalkilasi bekerja karsinogen dengan melakukan alkilasi DNA. Senyawa bifungsional seperti misalnya turunan mustar akan menyebabkan bergabungnya kedua untai DNA (hubung-silang)

### 5. Bahan alam karsinogen

Bahan alam karsinogen adalah:

- aflaktoksin yang dibentuk oleh *Aspergillus flavus* pada bahan makanan (misalnya kacang tanah),
- alkaloid pirolizidin dari spesies *Senecio*,
- safrol yang ada dalam minyak sassafras dan
- asam aristolokhiat yang ada dalam *Aristolochia clematidis*

## 6. Senyawa anorganik penyebab kanker

Senyawa anorganik penyebab kanker antara lain logam berat (misalnya cadmium, kromium, mangan, nikel, timbal), metaloid (misalnya arsen) serta asbes (magnesium silikat berupa serabut)

### 2.6.3 Siklus sel kanker

Sel tumor dapat berada dalam 3 keadaan, yaitu sel yang dapat membelah (siklus prolifertif), sel dalam keadaan istirahat ( $G_0$ ), dan sel yang permanen tidak membelah. Sel tumor yang sedang membelah berada dalam beberapa fase yaitu fase mitosis (M), pasca mitosis ( $G_1$ ), fase sintesis DNA (S), dan fase pramitosis ( $G_2$ ). Pada akhir fase  $G_1$  terjadi peningkatan RNA disusul dengan fase S, disini terjadi replikasi DNA. Setelah fase S berakhir, sel masuk dalam fase  $G_2$ , dengan ciri sel berbentuk tetraploid, mengandung DNA 2 kali lebih banyak dari sel lain, disini masih berlangsung sintesa RNA dan protein. Saat fase M berlangsung sintesa protein dan RNA berkurang tiba-tiba, sel membelah menjadi dua. Setelah itu sel dapat memasuki interfase untuk kembali memasuki fase istirahat. Sel dalam fase  $G_0$  yang masih potensial untuk membelah disebut klonogenik atau sel induk (stem cell). Jumlah sel kanker dapat bertambah pada siklus proliferative dan fase  $G_0$  (Guyton & Hall, 1997)

### 2.6.4 Tahap Karsinogenesis

Karsinogenesis merupakan proses yang berlangsung melalui beberapa tahapan (*multistage*). Paling sedikit karsinogenesis ada 2 tahap, bahkan ada yang mengemukakan paling sedikit 6-7 tahap. Kanker merupakan akumulasi dari perubahan genetik. Kerusakan materi genetik ini dapat berupa mutasi, kelainan jumlah atau struktur. Proses dimulai dengan tahapan inisiasi dimana gen tertentu

mengalami kerusakan dan sifat kerusakan ini bersifat menetap (*irreversible*). Sebelum mengalami perubahan menjadi sel kanker, sel tersebut tidak berbeda dengan sel normal lainnya. Hanya saja ia lebih sensitif terhadap perubahan sekitarnya jika dibandingkan dengan sel normal yaitu mudah terangsang baik oleh faktor pertumbuhan maupun faktor penghambat. Sel ini tidak bertumbuh atau bertumbuh secara perlahan saja.

Sesudah tahapan inisiasi, terjadi tahapan berikutnya yaitu tahap promosi. Pada tahapan ini sel yang terinisiasi tadi akan dipacu untuk membelah oleh substansi yang dapat berupa karsinogen atau oleh bahan/substansi lain yang disebut bahan/substansi promotif (*promoting agent*). Substansi ini sendiri sebenarnya bukan bahan karsinogen dan tidak akan menimbulkan kanker, tetapi ia hanya menginduksi pertumbuhan sel yang sudah terinisiasi dan berkembang menjadi sel tumor. Substansi ini diperkirakan mempengaruhi diferensiasi sel sehingga tidak terjadi diferensiasi sesuai dengan fungsinya, yang biasanya terjadi pada sel normal setelah sel membelah. Perubahan genetik lebih lanjut diperlukan agar sel tumor dapat bermetastasis (Prawirohardjo, 2006).

#### **2.6.5 Pengobatan kanker**

Suatu upaya besar untuk menciptakan obat antikanker melalui skrining empiris serta desain rasional senyawa baru, telah berjalan selama lebih dari 3 dekade. Idealnya, obat antikanker akan mengeradikasi sel kanker tanpa merusak jaringan yang normal. Sayangnya, tidak ada dari agen yang saat ini tersedia yang sama sekali tidak menimbulkan toksisitas sehingga penggunaannya klinisnya harus dilakukan dengan mempertimbangkan manfaat dan toksisitas untuk mencari indeks terapeutik yang paling menguntungkan (Masters & Trevor, 2010).

Berdasarkan kerjanya sitostatik dapat dibedakan menjadi (Guyton&Hall, 1997):

1. Sitostatik spesifik, hanya bekerja pada fase siklus sel tertentu, contohnya alkaloid kolchisin dan vinca hanya bekerja pada fase mitosis.
2. sitostatik nonspesifik, bekerja pada keseluruhan siklus sel, contohnya alkilantia (pengalkil).

Penggolongan obat-obat kanker adalah sebagai berikut (Guyton&Hall, 1997):

1. Obat alkilasi polyfungsional (alkilator)

Yang termasuk kedalam golongan ini adalah:

- Turunan diklorosulfida, contohnya: Siklofosfamid.
- Turunan N-Nitrosourea, contohnya: Karmustin.
- Turunan Etilamin, contohnya: Tiotepa.
- Busulfan dan Sisplatin.

2. Inhibitor mitosis

Obat-obat kanker yang termasuk dalam golongan ini contohnya: Kolchisin, turunan podofilin, dan alkaloid vinka.

3. Antimetabolit

- Antagonis Asam Fosfat, contoh: Metotreksat
- Antagonis basa purin dan pirimidin, contohnya: Tioguanin

4. Antibiotik

Beberapa antibiotik yang dapat digunakan untuk terapi kanker adalah aktinomisin, antrasiklin, akklarubisin, daunorubisin, doksorubisin, dan epirubisin.

5. Hormon dan antagonis hormon, seperti: Hormon hipotalamus, estrogen, estramustin, antiestrogen, antiandrogen. dan hormone korteks adrenal.
6. Sitostatik lain seperti asparaginase, prokarbazin, dan hidroksiurea.
7. Isotop radioaktif, contohnya: Iod, Emas, dan Fosfor radioaktif.

Dengan metode-metode pengobatan saat ini, sekitar sepertiga pasien disembuhkan dengan strategi lokal, misalnya pembedahan atau radioterapi, ketika tumor tetap terlokalisasi pada saat diagnosis. Diagnosis yang lebih dini meningkatkan angka kesembuhan dengan terapi lokal tersebut. Namun pada kasus-kasus sisanya, biasanya telah terjadi mikrometastasis yang menunjukkan bahwa diperlukan pendekatan sistemik dengan kemoterapi agar penanganannya efektif (Katzung *et al.*, 2014)

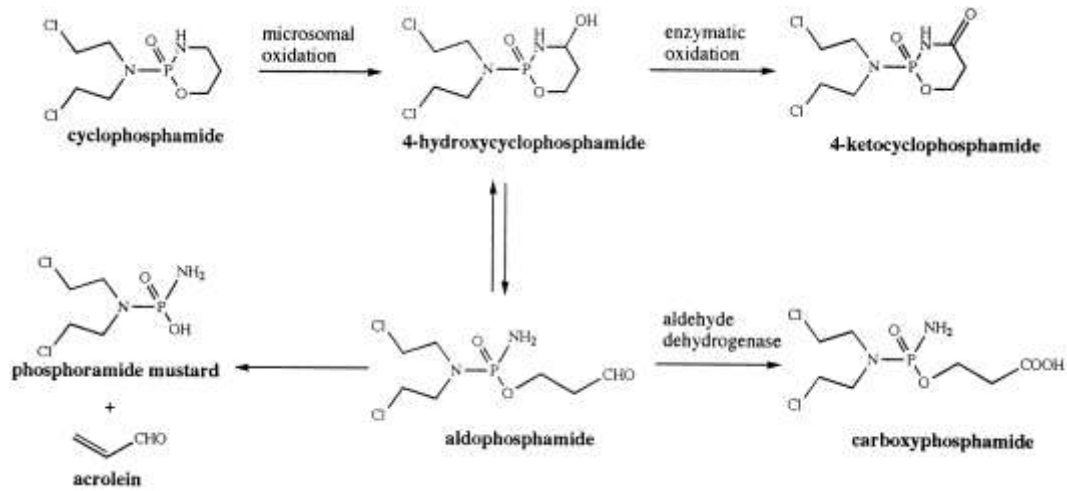
## **2.7 Siklofosfamid**

Siklofosfamid merupakan salah satu obat kanker yang tergolong dalam sitostatik pengalkilasi turunan diklordietilsulfida. Dalam kelompok turunan diklordietilsulfida ini siklofosfamid merupakan senyawa yang paling terkenal dan juga paling banyak digunakan. Senyawa ini secara invitro hampir tidak berkhasiat, baru dalam tubuh diubah menjadi bentuk yang berkhasiat (aktif) (Syarif *et al.*, 1995)

### **2.7.1 Biotransformasi Siklofosfamid**

Didalam hati, senyawa ini akan mengalami hidrosilasi menjadi 4-hidroksi-siklofosfamida yang ada dalam kesetimbangan dengan aldofosfamida yang mempunyai cincin terbuka. Baru pada jaringan perifer akan terbentuk secara non enzimatis zat pengalkilasi terkuat N,N-bis(2-kloretil)-fosfatdiamida, dengan memutuskan akrolein. Metabolit lain adalah 4-oksosiklofosfamida dan

karboksifosfamida, dan dari keduanya hanya karboksifosfamida yang masih mempunyai aktivitas sitotoksik yang kecil (Mutschler, 1991).



**Gambar 3.** Biotransformasi Siklofosfamid (Chen *et al.*, 1997).

### 2.7.2 Siklofosfamid sebagai Karsinogen

Siklofosfamid pada dosis tinggi merupakan salah satu eksogen pencetus kanker. Siklofosfamid bersifat karsinogen melalui metabolit aktifnya yang bersifat pengalkilasi, yaitu mustard fosforamid, akrolein, dan 4-hidroksisiklofosfamid. Hal ini berhubungan dengan ketidakmampuan enzim untuk menetralkan metabolit siklofosfamid yang bersifat reaktif. Senyawa pengalkilasi hasil metabolisme hati dapat berikatan dengan berbagai gugus fungsi komponen sel termasuk terhadap basa-basa DNA, selain itu dapat juga terjadi peristiwa pindah silang DNA. Reaksi-reaksi tersebut dapat mengakibatkan patahan rantai DNA yang diduga menyebabkan terjadinya patahan kromosom. Siklofosfamid bekerja pada siklus non spesifik, sehingga pada saat yang bersamaan penggunaan siklofosfamid dengan dosis besar dapat menimbulkan kerusakan pada sel normal, terutama jaringan yang mempunyai laju pembelahan

sel yang tinggi seperti sum-sum tulang, saluran cerna, gonad, atau kulit (Mutschler,1991).

Mekanisme umum kerja siklofosamid melibatkan siklisasi intramolekul untuk membentuk ion etilenimonium yang bisa langsung atau melalui pembentukan ion karbonium memindahkan gugus alkil ke unsur sel. Tempat alkilasi utama adalah posisi N7 guanin, basa lain alkilasi dalam tingkat yang lebih kecil. Interaksi ini dapat timbul pada utas alkilasi utama bersifat bifungsional dengan 2 gugusan reaktif. Alkilasi guanine dapat menghasilkan kode yang salah melalui basa abnormal yang berpasangan dengan timin atau depurinasi dengan eksisi sisa guanine. Efek terakhir menyebabkan pecahnya utas DNA melalui pengguntingan ikatan fosfat DNA (Salmon, 2004).

## **2.8 *Micronukleus Assay***

Metoda mikronukleus merupakan suatu metode *in vivo* yang sederhana dan cepat. Metode ini digunakan untuk mendeteksi kerusakan yang diinduksi oleh senyawa kimia pada kromosom atau perlengkapan mitotik. Prinsip metoda ini berdasarkan pada peningkatan jumlah sel mikronuklei polikromatik eritrosit pada sum-sum tulang hewan percobaan. Sel mikronuklei adalah sel yang intinya mengalami perubahan yang menyebabkan inti sel berada pada fase mitosis atau dalam keadaan membelah. Peningkatan jumlah sel mikronuklei dalam sum-sum tulang merupakan indikator adanya kerusakan pada kromosom yang diinduksi oleh senyawa kimia (Mary, 1962)

Pemberian penginduksi dapat menyebabkan terjadinya pemecahan kromosom sel sehingga akan terbentuk inti baru dengan ukuran lebih kecil dari inti semula. Terbentuknya inti kecil ini akibat pemecahan kromosom belum diketahui dengan

pasti. Inti akan menyebar di dalam sel. Inti baru mengandung asam nukleat lebih tinggi dibandingkan dengan inti awal. Pengamatan kelainan ini harus dengan pewarnaan. Sel yang mengalami proliferasi akan menyerap zat warna lebih banyak dibandingkan sel normal, sehingga saat pengamatan sel normal akan berwarna lebih terang, sedangkan sel berproliferasi tinggi akan berwarna lebih gelap(Fitrini, 2009).

### **BAB III**

#### **PELAKSANAAN PENELITIAN**

##### **3.1 Waktu dan Tempat penelitian**

Jenis penelitian adalah eksperimental. Penelitian ini dilakukan mulai dari bulan Maret 2018 sampai dengan bulan Mei 2018 di Laboratorium Penelitian Sekolah Tinggi Farmasi Indonesia (STIFI) Yayasan Perintis Padang.

##### **3.2 Alat dan Bahan**

###### **3.2.1 Alat**

Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini adalah : seperangkat alat *rotary evaporator*, botol maserasi, krus porselen, oven (Mommert), furnace (Wise), kertas saring, plat tetes, erlenmeyer 250 ml (Pyrex), gelas ukur 10 ml (Pyrex), gelas ukur 50 ml (Pyrex), gelas piala 10 ml (Pyrex), kaca arloji, penjepit, tabung reaksi, spatel, cawan penguap, lumpang dan alu, pinset, pipet tetes, timbangan analitik, timbangan hewan, jarum oral, alat suntik, kaca objek, alat sentrifuge, mikroskop elektrik.

### **3.2.2 Bahan**

Bahan-bahan yang digunakan adalah rimpang temu putih, etanol 96% (Brataco), *calf bovin serum*, metilen blue (Merck), eosin Y (Merck), metanol (Brataco), buffer fosfat pH 7 (Merck), pereaksi Giemsa (Merck), aquadest (Brataco), asam klorida pekat (Merck), kloroform (Merck), norit (Eagle brand), asam asetat glasial (Merck), asam sulfat pekat (Merck), amoniak (Merck), raksa(II) klorida (Merck), kalium iodida (Merck), aquadest (Brataco), xylol (Merck), siklofosamid (Kalbe), Na CMC, minyak imersi (Merck).

### **3.2.3 Hewan Percobaan**

Hewan percobaan yang digunakan adalah mencit putih jantan berumur  $\pm 2$  bulan dengan berat badan 20-30 g. Jumlah hewan uji yang digunakan adalah sebanyak 25 ekor, dibagi kedalam 5 kelompok dengan jumlah hewan uji adalah 5 ekor/ kelompok.

## **3.3 Metoda Penelitian**

### **3.3.1 Pengambilan Sampel**

Sampel yang digunakan adalah rimpang temu putih yang diambil di Desa Tebat Ijuk Dili, Kab. Kerinci, Prov. Jambi.

### **3.3.2 Identifikasi Sampel**

Identifikasi sampel dilakukan di Herbarium Andalas (ANDA) Jurusan Biologi, Fakultas MIPA, UNAND, Padang.

### **3.3.3 Pembuatan Ekstrak**

Ekstrak dibuat dengan cara maserasi dengan menggunakan etanol 96%. Sebanyak 5000 g rimpang temu putih segar ditimbang, dikupas kulitnya, kemudian di cuci bersih. Lalu rimpang temu putih yang telah bersih di rajang untuk memperkecil ukurannya dan memperluas permukaan sampel untuk berkontak dengan pelarut. Kemudian sampel dimasukkan dalam botol maserasi dan tambahkan etanol 96% sampai terendam. Biarkan di tempat gelap selama 3 hari sambil sesekali diaduk. Pisahkan hasil maserasi dengan penyaringan menggunakan kapas dan kertas saring. Ulangi maserasi sebanyak 3 kali dengan cara yang sama. Semua maserat dikumpulkan dan dipekatkan dengan *rotary evaporator* sehingga diperoleh ekstrak kental.

## **3.4. Karakterisasi (*Curcuma zedoaria* (Christm.) Roscoe)**

### **3.4.1 Pemeriksaan Organoleptis**

Dilakukan dengan pengamatan visual yang meliputi warna, bentuk dan bau.

### **3.4.2 Penentuan Rendemen Ekstrak (Departemen Kesehatan RI, 2000)**

Rendemen adalah perbandingan antara ekstrak yang diperoleh dengan simplisia awal.

$$\% \text{ Rendemen} = \frac{\text{Berat ekstrak yang diperoleh}}{\text{Berat Sampel}} \times 100$$

### 3.4.3 Penentuan susut pengeringan(Departemen Kesehatan RI, 2008)

Tara cawan penguap yang telah dikeringkan selama 30 menit dalam oven pada suhu 105 °C, timbang ekstrak sebanyak 1 gram, masukkan kedalam cawan penguap kemudian ditimbang kembali, lalu dengan perlahan cawan digoyang agar ekstrak merata. Masukkan kembali kedalam oven. Cawan penguap berisi ekstrak dipanaskan dalam suhu 105°C selama 1 jam. Setelah itu keluarkan dan dinginkan dalam desikator lalu ditimbang.

Lakukan pengulangan seperti cara yang sama dengan diatas sampai diperoleh berat yang konstan.

$$\%susutpengerangan = \frac{(B - A) - (C - A)}{(B - A)} \times 100\%$$

Keterangan :

A= Berat cawan penguap kosong

B= Berat cawan penguap + sampel sebelum dpanaskan

C= Berat cawan penguap + sampel yang telah dipanaskan

### 3.4.4 Penetapan Kadar Abu (Departemen Kesehatan RI, 2008)

Timbang seksama 1 gram ekstrak dan masukkan kedalam krus yang telah dipijar dan ditara. Pijarkan perlahan-lahan dalam furnes pada suhu 600°C selama 6 jam, dinginkan dalam desikator dan timbang.

$$Kadar\ abu = \frac{(C - A)}{(B - A)} \times 100\%$$

Keterangan :

A = Berat krus kosong

B = Berat krus porselen + sampel sebelum pemijaran

C = Berat krus porselen + sampel setelah pemijaran

### 3.4.5 Uji Skrining Fitokimia

#### a. Pemeriksaan flavonoid, fenolat dan saponin

Ekstrak kental etanol dimasukkan kedalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan 5 ml aquadest dan 5 ml kloroform. Untuk pemeriksaan flavonoid (metode “sianidin test”) lapisan air diteteskan 1-2 tetes pada plat tetes, lalu tambahkan asam klorida pekat. Timbulnya warna merah menandakan adanya flavonoid. Kemudian lapisan air diteteskan  $\text{FeCl}_3$ , bila terbentuk warna biru maka hasil dinyatakan positif. Untuk pemeriksaan saponin lapisan air dimasukkan kedalam tabung reaksi dan dikocok, saponin dinyatakan positif jika terlihat adanya busa yang stabil selama lebih kurang 15 menit (Harbourne, 1987).

#### b. Pemeriksaan terpenoid, steroid, dan alkaloid

Ekstrak kental etanol dimasukkan kedalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan 5 ml aquadest dan 5 ml kloroform, dikocok dan diamkan hingga terbentuk 2 lapisan, yaitu lapisan air dan lapisan kloroform. Ambil lapisan kloroform, tambahkan norit kedalam pipet tetes dan saring kloroform kedalam pipet tetes hingga keluar filtrat. Kemudian teteskan pada plat tetes dan tambahkan pereaksi Liebermann Buchard (2 tetes asam asetat anhidrat dan 1 tetes asam sulfat pekat) bila terbentuk warna merah menandakan adanya terpenoid dan warna biru menandakan adanya steroid (metode “simes”). Untuk pemeriksaan alkaloid (metode “culvenor – fristgerald”), ambil sedikit lapisan kloroform tambahkan 10 ml kloroform amoniak 0,05 N, aduk perlahan, biarkan memisah. Ambil lapisan asam dan pindahkan kedalam tabung reaksi lalu

tambahkan beberapa tetes pereaksi mayer, reaksi positif alkaloid ditandai dengan adanya kabut putih hingga gumpalan putih (Harbourne, J. B, 1987).

### **3.5 Persiapan Hewan Percobaan**

Hewan percobaan yang digunakan adalah mencit putih jantan yang sehat berumur  $\pm$  2 bulan dengan berat badan 20 - 30 g. Mencit diaklimatisasi selama 1 minggu dengan lingkungan percobaan (Busk & Sjostrom, 1984). Hewan yang memenuhi syarat untuk digunakan adalah hewan yang sehat, yakni bila selama pengamatan tidak terjadi perubahan berat badan  $\pm$  10% dan secara visual tidak menunjukkan gejala sakit (Fitrini, 2009).

### **3.6 Dosis yang digunakan**

1. Dosis ekstrak etanol rimpang temu putih digunakan 3 variasi dosis, yaitu: 100, 300, 1000 mg/kgBB
2. Dosis siklofosfamid

Dosis siklofosfamid yang digunakan adalah 50 mg/kgBB

### **3.7 Pembuatan Sediaan**

Pembuatan suspensi ekstrak etanol rimpang temu putih:

Suspensi Na.CMC 0.5% dibuat dengan cara NaCMC ditimbang 50 mg dikembangkan dengan air panas 20 kalinya. Setelah mengembang digerus kemudian ditambahkan ekstrak etanol rimpang temu putih sesuai konsentrasi ekstrak yang telah ditentukan, gerus homogen dan cukupkan dengan aquadest sampai volume 10 mL (Gandasoebrata, 2007)

$$\text{konsentrasi mg/mL} = \frac{\text{Dosis (mg x kg BB)} \times \text{Berat Badan (kg BB)}}{\text{volume administrasi obat (mL)}}$$

### **3.8 Pembuatan *calf bovin serum* (Busk & Sjostrom, 1984)**

Serum diperoleh dari darah anak sapi berumur 10 bulan, caranya adalah dengan mengambil darah segar sapi menggunakan jarum injeksi melalui vena di leher. Diamkan selama 10 menit, lalu sentrifuge dengan kecepatan 2000 rpm selama 15 menit sampai terpisah antara bekuan dan cairan yang berwarna kuning. Cairan yang berwarna kuning ini merupakan serum.

### **3.9 Pembuatan May gruenwald**

Pereaksi May gruenwald dibuat dengan cara melarutkan 1 ml metilen blue dan 1 ml eosin Y dalam 100 ml metanol.

### **3.10 Pembuatan Kloroform Amoniak**

Pereaksi kloroform amoniak dibuat dengan cara mencampurkan 1 ml amoniak ke dalam 250 ml kloroform.

### **3.11 Pembuatan Mayer**

Pereaksi Mayer dibuat dengan cara mencampurkan larutan  $\text{HgCl}_2$  (1,5 gram  $\text{HgCl}_2$  dilarutkan dalam 60 ml aquadest) dengan larutan KI (5 gram KI dalam 10 ml aquadest) kemudian di cukupkan dengan aquadest hingga volume 100 ml.

### **3.12 Pelaksanaan Uji (Busk & Sjostrom, 1984)**

Hewan percobaan dikelompokkan secara random menjadi 5 kelompok, dimana masing-masing kelompok terdiri dari 5 ekor hewan percobaan.

- Kelompok 1 dan 2 merupakan kelompok hewan percobaan kontrol positif dan kontrol negatif diberi larutan Na CMC 0,5% selama 7 hari secara peroral.

- Pada hari ke 8 kelompok hewan percobaan kontrol positif diberi siklofosfamid dengan dosis 50 mg/KgBB secara intraperitoneal.
- Kelompok uji 3, 4, 5 diberi suspensi ekstrak rimpang temu putih dalam Na CMC 0,5% selama 7 hari secara peroral, masing-masing dengan dosis 100, 300, 1000 mg/KgBB, dan pada hari ke 8 setelah pemberian ekstrak, hewan percobaan diberi siklofosfamid dengan dosis 50 mg/KgBB intraperitoneal.
- Setelah 30 jam hewan dibunuh dengan cara dislokasi leher, kemudian diambil sumsum tulang femurnya.
- Sumsum tulang femuryang diperoleh dimasukkan ke dalam campuran calf bovin serum dan buffer fosfat, biarkan selama 30 detik, kemudian disentrifuge dengan kecepatan 2000 rpm selama 5 menit. Bagian larutan dibuang sedangkan peletnya disuspensikan ke dalam 0,5 mL larutan serum : buffer fosfat ( 1 : 1 v/v).

### **3.13Pembuatan Preparat apusan sumsum tulang (Busk & Sjostrom, 1984)**

1. Suspensi sumsum tulang femur dioleskan pada kaca objek, lalu dikering anginkan.
2. Kaca objek yang telah diolesi suspensi sumsum tulang femur direndam dalam metanol selama 10 menit.
3. Kemudian kaca objek direndam dalam 50 ml larutan May Gruenwald
4. Selanjutnya kaca objek direndam dalam 100 ml campuran May Gruenwald – buffer fosfat (1 : 1 v/v) selama 2 menit lalu dicuci dengan buffer fosfat.

5. Setelah kering, kaca objek direndam dalam 70 ml campuran Giemsa – buffer fosfat (1:6 v/v) selama 10 menit lalu dicuci dengan buffer fosfat & aquadest, kemudian dikering anginkan.
6. Setelah kering, kaca objek direndam dalam etanol 96% selama 45 detik. Terakhir direndam dalam xylol selama 3 menit, kemudian dikering anginkan, selanjutnya amati apusan di bawah mikroskop elektrik dengan perbesaran 1000 x dengan bantuan minyak imersi.
7. Jumlah sel mikronuklei dari 100 sel eritrosit dihitung, sel mikronuklei berwarna gelap, sedangkan sel normal terang. Untuk setiap kaca obyek jumlah sel mikronuklei dihitung sebanyak 10 x lapang pandang.
8. Sel mikronuklei akan berwarna lebih gelap saat pewarnaan sedangkan sel normal berwarna lebih terang. Tiap ekor mencit dibuat satu apusan sumsum tulang femur dan tiap apusan dilakukan 10 x lapang pandang dengan mikroskop pada tempat yang berbeda. Jumlah sel mikronuklei dari 100 sel eritrosit merupakan persentase jumlah sel mikronuklei yang ada pada apusan sumsum tulang.

### **3.14 Analisa Data**

Untuk menganalisa data hasil penelitian yang diperoleh dari semua parameter digunakan analisa varian (ANOVA) satu arah dan dilanjutkan dengan uji Duncan menggunakan *software statistic* SPSS 16. ANOVA satu arah dapat digunakan untuk melihat perbandingan rata-rata beberapa kelompok yang biasanya lebih dari dua kelompok yang tidak berhubungan (Priyatno, 2008).

Sedangkan uji Duncan dipilih untuk melihat kebermaknaan dari masing-masing kelompok.

## **BAB IV**

### **HASIL DAN PEMBAHASAN**

#### **4.1. Hasil**

Dari penelitian yang telah dilakukan didapatkan hasil sebagai berikut:

1. Hasil indentifikasi yang dilakukan di Herbarium Jurusan Biologi, Fakultas Ilmu Pengetahuan Alam (FMIPA), Universitas Andalas, Padang bahwasannya

tanaman yang diteliti adalah benar rimpang temu putih (*Curcuma zedoaria* (Christm.) Roscoe) (Lampiran 1).

2. Dari 5kg rimpang temu putih (*Curcuma zedoaria* (Christm.) Roscoe) segar diperoleh ekstrak kental sebanyak 367,5 gram dengan rendemen adalah 7,35% (Lampiran 5, Tabel IV).
3. Hasil pemeriksaan organoleptis menunjukkan bahwa ekstrak etanol rimpang temu putih berupa cairan kental, berwarna kuning kecoklatan, berbau khas rimpang dan rasa pahit sedikit pedas (Lampiran 5, Tabel V).
4. Persentase susut pengeringan ekstrak etanol rimpang temu putih adalah 9,72% (Lampiran 5, Tabel VI).
5. Persentase kadar abu ekstrak etanol rimpang temu putih adalah 0,74% (Lampiran 5, Tabel VII).
6. Berdasarkan hasil uji skrining fitokimia menunjukkan bahwa ekstrak etanol rimpang temu putih mengandung: flavonoid, fenolat, saponin dan terpenoid (Lampiran 5, Tabel VIII).
7. Hasil pemeriksaan preparat apusan sum-sum tulang femur terlihat bahwa sel normal berwarna lebih terang, sedangkan sel mikronuklei berwarna lebih gelap (Lampiran 9, Gambar 11).
8. Hasil uji aktivitas antikanker menggunakan metoda *m micronucleus assay* pada kontrol negatif diperoleh persentase sel mikronuklei 20,20% dan kontrol positif 80,20% (Lampiran 6, Tabel IX).
9. Hasil uji aktivitas antikanker menggunakan metoda *m micronucleus assay* pada: Dosis 100 mg/Kg BB 54,00%; dosis 300 mg/Kg BB 44,80%; dan dosis 1000 mg/Kg BB 30,40% (Lampiran 6, Tabel IX), dimana persentase penurunan sel

mikronuklei terhadap kontrol positif adalah: Dosis 100 mg/Kg BB 32,67%; dosis 300 mg/Kg BB 44,13%; dan dosis 1000 mg/Kg BB 62,09%(Lampiran 7, Tabel X).

#### **4.2. Pembahasan**

Tujuan dilakukan penelitian ini adalah untuk melihat pengaruh pemberian ekstrak etanol rimpang temu putih(*Curcuma zedoaria* (Christm.)Roscoe)yang diberikan secara oral pada mencit putih jantan terhadap aktivitas mencegah kanker dengan menggunakan metode *micronucleus assay*.Sampel yang digunakan adalah rimpang temu putih(*Curcuma zedoaria* (Christm.)Roscoe). Langkah awal yang

dilakukan sebelum penelitian adalah mengidentifikasi sampel di herbarium ANDA, Jurusan Biologi, Fakultas MIPA, Universitas Andalas yang bertujuan untuk memperoleh identitas sampel sehingga tidak terjadi kesalahan terhadap tanaman yang digunakan. Berdasarkan hasil identifikasi yang dilakukan diperoleh bahwa sampel yang digunakan adalah rimpang temu putih (*Curcuma zedoaria* (Christm.) Roscoe) family Zingiberaceae.

Sebanyak 5 kg rimpang temu putih segar dicuci bersih, kemudian dirajang untuk memperkecil ukuran dan memperluas permukaan sampel dengan demikian lebih banyak bagian sampel yang berkontak dengan pelarut sehingga proses penyarian lebih sempurna. Ekstraksi rimpang temu putih dilakukan dengan cara maserasi. Metode maserasi dipilih karena efektif untuk senyawa yang tidak tahan panas (terdegradasi karena panas), peralatan yang digunakan sederhana, mudah dan murah didapat ((Departemen Kesehatan Republik Indonesia., 2000).

Rimpang temu putih segar dimaserasi dengan menggunakan pelarut etanol 96%. Pemilihan etanol sebagai pelarut dikarenakan etanol merupakan pelarut universal artinya etanol dapat menarik komponen kimia baik yang polar, non polar maupun semi polar, sehingga dapat terekstraksi secara sempurna, harganya murah, mudah untuk didapatkan, tidak toksik, dan mencegah pertumbuhan jamur atau kapang. Maserasi dilakukan selama 3 hari dengan 3 kali pengulangan. Kemudian hasil maserat ditampung dalam wadah yang gelap dan selanjutnya dilakukan penguapan pelarut dengan menggunakan *rotary evaporator* sampai didapatkan ekstrak kental dan didapatkan ekstrak kental sebanyak 367,5 gram.

Ekstrak etanol rimpang temu putih yang diperoleh dapat dilakukan karakterisasi antara lain perhitungan rendemen, pemeriksaan organoleptis,

penentuan susut pengeringan, penentuan kadar abu dan pemeriksaan kandungan metabolit sekunder (fitokimia). Rendemen ekstrak etanol rimpang temu putih terhadap sampel segar yang diperoleh adalah sebanyak 7,35% (Lampiran 5, Tabel IV). Setelah dilakukan pemeriksaan organoleptis diperoleh data bahwa ekstrak etanol rimpang temu putih berupa cairan kental, berwarna coklat-kehitaman, berbau khas, dan rasa pahit serta pedas (Lampiran 5, Tabel V).

Berat susut pengeringan ekstrak etanol rimpang temu putih yang diperoleh yaitu 9,72% (Lampiran 5, Tabel VI). Tujuan dilakukan pemeriksaan susut pengeringan adalah untuk mengetahui persentase senyawa yang hilang selama proses pemanasan, tidak hanya air tapi juga senyawa menguap lainnya (Departemen Kesehatan RI, 2008). Kadar abu dari ekstrak etanol rimpang temu putih yaitu 0,74 % (Lampiran 5, Tabel VII). Tujuan dilakukan penetapan kadar abu adalah untuk mengetahui dan memberikan gambaran kandungan mineral yang berasal dari awal sampai akhir terbentuknya ekstrak, dimana senyawa organik dan turunannya terdestruksi dan menguap sehingga tinggal unsur mineral dan senyawa anorganik saja (Departemen Kesehatan RI, 2008). Pada pemeriksaan metabolit sekunder (fitokimia) ekstrak etanol rimpang temu putih mengandung flavonoid, fenolat, saponin dan terpenoid (Lampiran 5, Tabel VIII).

Pada penelitian hewan percobaan yang digunakan adalah mencit putih jantan dengan umur  $\pm$  2 bulan dan berat badan rata-rata 20-30 gram. Pemilihan hewan percobaan ini dimaksudkan agar terdapat keseragaman dalam penelitian. Selain itu mencit putih jantan memiliki beberapa keuntungan, yaitu fisiologis tubuhnya mirip dengan manusia, ukuran tubuhnya yang relatif kecil, penanganan mudah, mudah didapat dan harga lebih murah. Digunakan mencit jantan dengan

pertimbangan sistem hormonalnya lebih stabil. Untuk menghindari penyimpangan hasil penelitian, maka dipilih mencit dengan galur dan jenis kelamin yang sama, usia dan berat badan relatif sama (Thompson, 1990).

Sebelum pengujian, mencit diaklimatisasi dulu selama 1 minggu agar mencit dapat beradaptasi dengan lingkungan percobaan, serta untuk menghindari stres yang dapat berpengaruh pada hasil penelitian. Hewan yang memenuhi syarat untuk digunakan adalah hewan yang sehat yakni dilihat secara visual tidak menunjukkan gejala sakit.

Metoda mikronukleus merupakan suatu metoda *in vivo* yang sederhana dan cepat. Metoda ini digunakan untuk mendeteksi kerusakan yang diinduksi oleh senyawa kimia. Prinsip metoda ini berdasarkan pada peningkatan jumlah sel mikronuklei polikromatik eritrosit pada sumsum tulang hewan percobaan. Sel mikronuklei adalah sel yang intinya mengalami perubahan yang menyebabkan inti sel berada pada fase mitosis atau dalam keadaan membelah. Peningkatan jumlah sel mikronuklei dalam sumsum tulang merupakan indikator adanya kerusakan yang diinduksi oleh senyawa kimia (Guideline, The, & Of, 2014).

Mikronukleus adalah nukleus eratik (ketiga) yang terbentuk selama proses anafase mitosis atau meiosis. Mikronuklei adalah badan sitoplasma yang memiliki porsikromosom asentrik atau seluruh kromosom yang adati tidak dibawa ke kutub yang berlawanan selama anafase. Hasil formasi menyebabkan sel anak kekurangan satu bagian atau semua bagian kromosom. Fragmen-fragmen kromosom ini atau keseluruhan kromosom biasanya berkembang menjadi membran nuklei dan membentuk mikronukleus sebagai inti ketiga. Setelah sitokinesis, satu sel anak memiliki satu nukleus dan yang lainnya memiliki satu besar dan satu nukleus

kecil, yaitu mikronuklei. Dimana ini merupakan peluang terbentuknya lebih dari satu mikronukleus saatsemakin banyak kerusakan genetik yang terjadi(Srividya *et al.*, 2013).

Sebagai penginduksi kanker digunakan siklofosfamid dosis tinggi yaitu 50 mg/Kg BB secara intraperitoneal.Siklofosfamid pada dosis tinggi merupakan salah satu eksogen pencetus kanker.Pemberian siklofosfamid sebagai penginduksi adalah karena metabolismenya cepat, mudah didapat, dan harganya murah.Siklofosfamid menginduksi pembentukan mikronukleus melalui metabolit aktifnya yang bersifat pengalkilasi, yaitu mustard fusforamid, akrolein, dan 4-hidroksisiklofosfamid.Senyawa pengalkilasi tersebut dapat berikatan dengan berbagai gugus fungsi komponen sel termasuk terhadap basa – basa DNA, selain itu dapat juga terjadi peristiwa pindah silang DNA.Reaksi-reaksi tersebut dapat mengakibatkan patahan rantai DNA yang diduga menyebabkan terjadinya patahan kromosom yang dapat terlihat sebagai mikronukleus.Siklofosfamid bekerja pada siklus sel nonspesifik, sehingga pada saat yang bersamaan penggunaan siklofosfamid dengan dosis besar dapat menimbulkan kerusakan pada sel normal, terutama jaringan yang mempunyai laju pembelahan sel yang tinggi seperti sumsum tulang, saluran cerna, gonad, atau kulit (Mutschler, 1991).

Setelah hewan percobaan diberi sediaan uji, hewan dikorbankan dan diambil sumsum tulang femurnya.Sumsum tulang ini kemudian disuspensikan kedalam campuran serum dan buffer fosfat, dilanjutkan dengan membuat preparat apusan dan pewarnaan.Alasan penggunaan *calf bovin serum* dalam pengujian ini adalah untuk menjaga agar sumsum tulang yang diambil tidak rusak, dengan cara mensuspensikannya dalam *calf bovin serum* yang dibantu dengan penyangga pH

yaitu buffer fosfat. Serum yang digunakan adalah serum darah anak sapi berumur 10 bulan dengan umur maksimal 16 bulan, hal ini dikarenakan semakin muda umur anak sapi maka akan semakin tinggi tingkat kemurnian serum yang didapatkan.

Berdasarkan hasil pengamatan pada preparat terlihat sel mikronuklei berwarna lebih gelap, sedangkan sel normal berwarna lebih terang. Perbedaan warna ini terjadi berkaitan dengan kandungan asam nukleat sel. Pada sel yang mengalami proliferasi kadar asam nukleatnya tinggi sehingga akan mengikat zat warna lebih banyak dan akhirnya tampak berwarna lebih gelap. Sehingga, semakin gelap warna suatu sel mikronuklei, menandakan semakin banyaknya nukleus kecil yang terbentuk dan semakin tingginya kerusakan genetik yang terjadi.

Pewarnaan yang digunakan pada penelitian ini adalah gabungan Giemsa dan May-gruenwald, gabungan keduanya diharapkan dapat memberikan hasil pengamatan yang lebih baik, sehingga sel yang akan diamati dapat terlihat lebih jelas dimana giemsa dapat menjadi indikator terhadap sel normal, dan may grienwald menjadi indikator terhadap sel mikronuklei. Giemsa memberi warna ungu kemerahan pada sel, eosin memberi warna merah pada preparat apusan, metilen blue memberikan warna biru pada sitoplasma sel eritrosit, sedangkan metilen azzur memberi warna merah pada inti sel. May grienwald memberi warna violet pada sel mikronuklei. Xylol digunakan sebagai pengawet (Busk & Sjostrom, 1984). Jumlah mikronuklei yang banyak dalam fase promosi suatu sel akan menyebabkan sel tersebut lebih banyak menyerap zat warna, hal ini yang kemudian menjadi dasar dalam mempermudah pengamatan aktivitas antikanker rimpang temu putih.

Adapun parameter uji antikanker itu adalah menghitung jumlah sel mikronuklei setelah perlakuan. Perhitungan hasil dilakukan dengan menghitung jumlah sel mikronuklei dan sel normal di sepuluh tempat yang berbeda untuk tiap apusan, dilakukan pengulangan untuk meminimalkan kesalahan pada saat menghitung. Kemudian ditentukan persentase rata-rata sel mikronuklei dengan membandingkan rata-rata sel mikronuklei terhadap sel normal. Pengolahan data dilanjutkan secara statistik menggunakan ANOVA satu arah untuk melihat apakah tingkatan dosis, perlakuan, dan perbedaan sampel pada masing-masing kelompok hewan percobaan memberikan perbedaan yang berarti pada jumlah sel mikronuklei. Uji ini kemudian dilanjutkan dengan uji Duncan untuk melihat perbedaan dari masing-masing perlakuan yang dilakukan, apakah memberikan perbedaan yang bermakna atau tidak.

Hasil pengamatan pada kelompok hewan kontrol positif yang hanya diinduksi dengan siklofosfamid diperoleh jumlah sel mikronuklei mencapai 80,20%. Sedangkan hasil pengamatan pada hewan percobaan tanpa diinduksi siklofosfamid atau kontrol negatif diperoleh persentase sel mikronuklei 20,20%. Ini menunjukkan bahwa pemberian siklofosfamid pada dosis tunggal 50 mg/Kg BB dapat menginduksi terbentuknya kanker pada sumsum tulang yang ditandai dengan menurunnya jumlah sel eritrosit normal dan meningkatnya jumlah sel mikronuklei.

Persentase sel mikronuklei pada kelompok pemberian ekstrak etanol rimpang temu putih terlihat menurun mulai dari dosis 100 mg/Kg BB, 300 mg/Kg BB hingga dosis 1000 mg/Kg BB, yaitu 54,00%; 44,80%; dan 30,40% (Lampiran 6, Tabel IX). Dengan nilai penurunan sel mikronuklei terhadap kontrol positif

32,67%; 44,13%; dan 62,09%. Hasil yang diperoleh baik pada pemberian ekstrak etanol rimpang temu putih terlihat bahwa peningkatan dosis berbanding lurus dengan penurunan sel mikronuklei. Hal ini disebabkan karena komponen yang terkandung dalam rimpang temu putih seperti kurkumin dan flavonoid yang berperan sebagai antiproliferasi sel dan antioksidan.

Berdasarkan perhitungan analisa variansi, persentase sel mikronuklei setelah pemberian ekstrak etanol rimpang temu putih diperoleh perbedaan yang signifikan ( $P < 0,05$ ) antara jenis sampel dan kelompok dosis (Lampiran 8, Tabel XI). Kemudian dilanjutkan dengan uji berjarak Duncan. Uji lanjut terhadap persentase sel mikronuklei pada kelompok dosis yang diberikan suspensi ekstrak etanol rimpang temu putih menunjukkan bahwa antara kelompok kontrol positif dengan masing-masing kelompok dosis terdapat perbedaan sangat nyata (Lampiran 8, Tabel XI).

Dari hasil pengujian Duncan didapatkan hasil bahwa kontrol negatif berbeda nyata dengan kontrol positif, kelompok uji 1, kelompok uji 2 dan kelompok uji 3. Kontrol positif tidak berbeda nyata dengan kelompok uji 1, tetapi berbeda nyata dengan kontrol negatif, kelompok uji 2 dan kelompok uji 3. Kelompok uji 1 tidak berbeda nyata dengan kelompok kontrol positif, kelompok uji 2 dan kelompok uji 3, tapi berbeda nyata dengan kelompok kontrol negatif. Kelompok uji 2 tidak berbeda nyata dengan kontrol negatif dan kelompok uji 3 dan , tapi berbeda nyata dengan kelompok kontrol positif. Kelompok uji 3 tidak berbeda nyata dengan kontrol negative, tapi berbeda nyata dengan kontrol positif.

Pada penelitian ini dosis terbaik yang berperan sebagai antikanker adalah dosis 300 mg/KgBB yang memiliki dosis yang lebih kecil dibandingkan dosis

1000 mg/KgBB dan dengan aktivitas antikanker yang hampir mendekati kontrol negatif. Selain itu, hasil penelitian yang telah dilakukan secara *in vivo* ini juga dapat membuktikan penelitian yang telah dilakukan sebelumnya yaitu penelitian aktivitas antikanker temu putih secara *in vitro* dengan metoda *MTT assay* terhadap sel Hela (Arifahet al, 2015), pengujian genotoksisitas temu putih secara *in vitro* melalui *ames test*, *comet assay* dan *micronucleus assay* (Srividya et al., 2013) dan juga pengujian aktivitas antioksidan dan antiproliferasi dari ekstrak kunyit putih secara *in vitro* dimana didapatkan hasil pengujian yang lebih tinggi dibandingkan kontrol positif yaitu  $\alpha$ -tocoferol (Saefudin et al., 2014).

Dan dari hasil penelitian secara *in vivo* ini juga dapat diasumsikan bahwa ekstrak etanol rimpang temu putih memiliki aktivitas antikanker sebagai agen preventif dalam pencegahan pertumbuhan sel kanker, sehingga dapat digunakan sebagai salah satu alternatif dalam pencegahan kanker.

## **BAB V**

### **KESIMPULAN DAN SARAN**

#### **5.1. Kesimpulan**

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan sebagai berikut:

1. Ekstrak etanol ekstrak etanol rimpang temu putih *Curcuma zedoaria* (Christm.) Roscoe memiliki aktivitas antikanker sebagai agen preventif yang dapat dilihat dari kemampuan menurunkan jumlah sel mikronuklei secara bermakna ( $P < 0,05$ ) dengan dosis terbaik adalah dosis 300 mg/KgBB.
2. Pemberian variasi konsentrasi ekstrak etanol ekstrak etanol rimpang temu putih *Curcuma zedoaria* (Christm.) Roscoe dapat mempengaruhi aktivitas antikanker sebagai agen preventif yang ditandai dengan semakin tinggi dosis ekstrak etanol ekstrak etanol rimpang temu putih *Curcuma zedoaria* (Christm.) Roscoe yang diberikan maka semakin menurun jumlah sel mikronuklei yang terbentuk.

#### **5.2. Saran**

Disarankan kepada peneliti selanjutnya dapat melakukan uji aktivitas antikanker yang lebih spesifik terhadap sel kanker untuk lebih mengetahui bagaimana pengaruh ekstrak rimpang temu putih *Curcuma zedoaria* (Christm.) Roscoe terhadap aktivitas sel kanker.

## DAFTAR PUSTAKA

- Anggraeni, C. 2017. *Jumlah Penderita Kanker di Indonesia*. (<http://artikel.allianz.co.id/agen/detail-article/Jumlah-Penderita-Kanker-Di-Indonesia-3817> diakses pada 15 Februari 2018)
- Arifah, I. S., Khasanah, K., Lidy, D. 2015. Kombinasi Ekstrak Temu Putih (*Curcuma zedoaria*) dan Bawang Putih (*Allium sativum* L.) terhadap Aktivitas Sel Limfomaden dengan Metode MTT Assay, *KHAZANAH* 7(2), 24–38.
- Astuti, W. 2011. *Flavonoid*. (<http://widiastuti.staff.uns.ac.id/2011/06/20/flavonoid/> diakses pada 18 Februari 2018)
- Badan POM RI. 2010. *Monografi Ekstrak Tumbuhan Obat Indonesia*. Direktorat Standardisasi Obat Tradisional, Kosmetik, Dan Produk Komplemen Badan Pengawasan Obat dan Makanan Republik Indonesia, Jakarta.
- Busk, L., & Sjostrom, B. 1984. Effects of Vitamin A On Cyclophosphamide Mutagenicity In Vitro (Ames Test) and In Vivo (Mouse Micronucleus Test). *Fd Chem Toxic*, 22, 725–730.
- Chen, T. L., Kennedy, M. J., Anderson, L. W., Kiraly, S. B., Black, K. C., Colvin, O. M., & Grochow, L. B. 1997. Nonlinear pharmacokinetics of cyclophosphamide and 4-hydroxycyclophosphamide/aldophosphamide in patients with metastatic breast cancer receiving high-dose chemotherapy followed by autologous bone marrow transplantation. *Drug Metabolism and Disposition: The Biological Fate of Chemicals*, 25(5), 544–51. (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9152592> diakses tanggal 18 Februari 2015)
- Dalimartha, S. 2003. *Atlas Tumbuhan Obat Indonesia, Jilid I*. Puspa Swara, Jakarta.
- Dalimunthe, A., & Septama, A. W. 2011. Uji Aktivitas Antikanker (Preventif dan Kuratif) Ekstrak Etanol Temu Mangga (*Curcuma Mangga* Val.) Pada Mencit yang Diinduksi Siklofosfamid. *Prahamedica* 3(2), 255-259
- Departemen Kesehatan RI. 2000. *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*. Direktorat Jendral Pengawasan Obat dan Makanan, Jakarta.
- Departemen Kesehatan RI. 2008. *Farmakope Herbal Indonesia*. Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta.
- Fitrini, M. 2009. Perbandingan Aktivitas Antikanker Estrak Etanol Daging Buah dan Biji Mahkota Dewa (*Phaleria macrocarpa*(Scheff.) Boerl) dengan Metoda “Micronucleus Assay” pada Mencit Putih Jantan. Skripsi STIFI YP Padang.

- Fudholi, Achmad. 2012. *Kanker dan Obat Herbal*. (<http://mipto.farmasi.ugm.ac.id/review-penelitian-162-kanker-dan-obat-herbal.html> diakses pada 20 februari 2018)
- Gandasoebrata, R. 2007. *Penuntun Laboratorium Klinik*. Dian Rakyat, Jakarta.
- Guideline,. 2014. *Oecd / Ocde Guideline for the Testing of Chemicals*, 1–16. (<https://doi.org/10.1787/9789264224292-en> diakses pada 20 Februari 2018)
- Guyton, M. D., & Hall. 1997. *Fisiologi Kedokteran* (9th ed.). Penerbit Buku Kedokteran EGC. Jakarta.
- Harborne, J. B. 1987. *Metode fitokimia Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*. ITB Press, Bandung.
- Harbourne, J. B. 1987. *Metoda Fitokimia, Edisi kedua*. ITB Press, Bandung.
- Haris, R. 1989. *Tanaman Minyak Atsiri*. Penebar Swadaya, Jakarta.
- Heinrich, M., Barnes, J., Gibbons, S., & Williamson, E. M. 2010. *Farmakognosi dan Fitoterapi (Fundamentals of Pharmacognosy and Phytotherapy)*. Penerbit Buku Kedokteran EGC, Jakarta.
- Joe, B., Vijaykumar, M., & Lokesh. 2004. Biological properties Of curcumin cellular and molecular Mechanisms of action. *Critical Review in Food Science and Nutrition*, 44(2), 97–112.
- Jung, E. B., Trinh, T. A., Lee, T. K., Yamabe, N., Kang, K. S., Song, J. H., Hwang, G. S. 2018. Curcuzedoalide contributes to the cytotoxicity of Curcuma zedoaria rhizomes against human gastric cancer AGS cells through induction of apoptosis. *Journal of Ethnopharmacology*, 213, 48–55.
- Katzung, B. G., Masters, S. B., & Trevors, A. J. 2014. *Farmakologi Dasar & Klinik* (12th ed.). Penerbit Buku Kedokteran EGC, Jakarta.
- Khrisna, G., & Makoto, H. 2000. In vivo rodent micronucleus assay: protocol, conduct and data interpretation. *Journal of Elsevier Science*, 455, 155–166.
- 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.
- Markham, K. R. 1988. *Cara Mengidentifikasi flavonoid*. ITB Press, Bandung.
- Masters, S. B., & Trevor, A. J. 2010. *Farmakologi Dasar & Klinik* (10th ed.). Penerbit Buku Kedokteran EGC, Jakarta .
- Matsuda, H., Ninomiya, K., Morikawa, T., & Yoshikawa, M. 1998. Inhibitory Effect and Action Mechanism of Sesquiterpenes from Zedoariae Rhizoma on DGalactosamine/ Lipopolysaccharide-induced Liver Injury,. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 17;8(4): 339-344.

- Mutschler, E. 1991. *Dinamika Obat*. ITB press, Bandung.
- Nurrochmad, A. 2004. Review: The new paradigm of curcumin and its anticancer activity. *Rumphius Journal of Natural Product Biochemistry*, 2(2), 75–80.
- Park, G., Eun, S., & Shim, S. H. 2012. Chemical constituents from *Curcuma zedoaria*. *Biochemical Systematics and Ecology*, 40, 65–68.
- Prawirohardjo, Y. 2006. *Buku Acuan Nasional Onkologi Ginekologi* (1st ed.). UI Press, Jakarta.
- Priyatno, D. 2008. *Mandiri Belajar SPSS*. MediaKom, Yogyakarta.
- Putri, M. S. 2014. White Tumeric (*Curcuma zedoaria*): Its Chemical Substance and the Pharmacological Benefits, *J MAJORITY3*, 88–93.
- Roviati, E. 2010. *Isolasi dan identifikasi kurkumin serta uji antimikroba kunyit putih*.  
(<https://www.academia.edu/24297285> diakses pada 15 Februari 2018)
- Salmon, S. 2004. *Farmakologi Dasar & Klinik* (8th ed.). Salemba Medika, Jakarta.
- Saefudin, Syarif, F., & Chairul. 2014. Potensi Antioksidan dan Aktivitas Antiproliferasi Ekstrak Kunyit Putih (*Curcuma zedoaria* Rosc.) Pada Sel Hela. *Widyariset*, 17, 381–390.
- Schunak, W., K, Mayer., & M, Hayke. 1990. *Senyawa Obat* (2nd ed.). Gajah Mada University Press, Yogyakarta.
- Siswandono, & Soekardjo. 1995. *Kimia Medisinal*. Airlangga University Press, Surabaya.
- Srividya, A. R., Dhanbal, S. P., Kumar, S. M. N., & Vishnuvarthan, V. J. 2013. Comparison of Genotoxicity Produced By Hydro Alcoholic Extract of *Curcuma Aromatica* Salisb, *Curcuma Zedoaria* With Curcumin By Ames Test, Comet Assay and Micronucleus Test. *International Research Journal of Pharmacy*, 4(6), 113–119.
- Surh, Y. 1999. Molecular Mechanisms of Chemopreventive Effects of Selected Dietary and Medicinal Phenolic Substances. *Br. J Cancer*, 80(1-2): 110-116.
- Syamsir, D. R., Sivasothy, Y., Hazni, H., Abdul Malek, S. N., Nagoor, N. H., Ibrahim, H., & Awang, K. 2017. Chemical Constituents and Evaluation of Cytotoxic Activities of *Curcuma zedoaria* (Christm.) Roscoe Oils from Malaysia and Indonesia. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 20(4), 972–982.
- Syarif, A. 1995. *Farmakologi dan Terapi*(4th ed.). Gaya Baru, Jakarta.

- 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.
- Syukur, D. C. 2003. *Temu Putih: Tanaman Obat Antikanker*. Penebar Swadaya, Jakarta.
- Thompson, E. B. 1990. *Bioscreening of Drug Evaluation Technique & Pharmacology*. Weinheim Basel Camrige, New York.
- Wijayakusuma. 1997. *Hidup Sehat*(6th ed.). PT. Gramedia, Jakarta.
- Windono, M. S., & 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. Inflamm Res*, 47(12): 476-481.