

**POTENSI ANTIOKSIDAN DAN AKTIVITAS ANTIPROLIFERASI
EKSTRAK KUNYIT PUTIH (*Curcuma zedoaria* Rosc.)
PADA SEL HELA**

***ANTIOXIDANT POTENTIAL AND PROLIFERATIVE ACTIVITY OF
Curcuma zedoaria* Rosc. *EXTRACT ON HELA CELLS***

Saefudin, Fauzia Syarif, dan Chairul

Bidang Botani, Pusat Penelitian Biologi-LIPI
Jl. Raya Jakarta-Bogor Km. 46 Cibinong 16911
Pos-el: saefudinkahfi@gmail.com

ABSTRACT

The aim of this study is to determine the antioxidant potential and anti-proliferative activity of Curcuma zedoaria Rosc extract on Hela cells. Two types of materials, such as water and ethanol extracts, were tested at different dose levels (1, 5, and 10%). The potential of antioxidant extract was tested by observing the peroxide value (POV) and prophylactic properties of superoxide (SO). The effects of Cytotoxic extracts were tested by observing the anti-proliferative properties on Hela cell morphology. Results showed that both water extract and ethanol extract contain antioxidants with higher value of superoxide and peroxide than α -tocopherol. Antioxidant potential of Curcuma zedoaria extract is evidential at its high concentration of 10%, but is less significant at lower concentration of 1 and 5%, when compared to the potential of positive control (α -tocopherol) and negative control (non-extract mixture). Antiproliferative activity of Curcuma zedoaria extracts at low concentration (1 and 5%) is not effective. At high concentration of 10%, anti-proliferative activity is effective. Cytotoxic effect of water extract of the rhizome of Curcuma zedoaria at the concentration of 10% changes the Hela cell morphology, but not cell wall rupture. High concentration of ethanol extract causes Hela cells to change its shape, rupture the cell walls, and fragment the cells.

Keywords: *Antioxidant, Cytotoxic effect, Antiproliferative activity, Extracts, Curcuma zedoaria*

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui potensi antioksidan rimpang kunyit putih (*Curcuma zedoaria* Rosc) dan efek sitotoksiknya pada sel Hela. Dua tipe bahan yaitu ekstrak air dan ekstrak etanol diuji pada tingkat konsentrasi yang berbeda (1, 5, dan 10)%. Potensi antioksidan ekstrak diuji dengan mengamati nilai peroksida (POV) dan sifat penangkal superoksida (SO). Efek sitotoksik ekstrak diuji dengan mengamati sifat antiproliferasi pada morfologi sel Hela. Hasil penelitian menunjukkan bahwa tipe ekstrak air maupun ekstrak etanol mengandung antioksidan, dengan nilai peroksida dan superoksida yang lebih tinggi dibanding kontrol positif yaitu α -tocopherol. Potensi antioksidan dari ekstrak *Curcuma zedoaria* bersifat nyata pada konsentrasi tinggi 10%, tetapi kurang bermakna pada konsentrasi rendah (1 dan 5%) ketika dibandingkan potensi kontrol positif (α -tocopherol) maupun kontrol negatif (campuran tanpa ekstrak). Aktivitas anti-proliferasi dari ekstrak *Curcuma zedoaria* pada sitotoksik dari ekstrak air rimpang *Curcuma zedoaria* pada konsentrasi 10% mengubah morfologi sel Hela. Bentuk dan ukuran sel menjadi lebih besar dibanding sel kontrol, tetapi dinding sel tidak pecah. Pemberian ekstrak etanol konsentrasi tinggi mengubah bentuk sel Hela menjadi makin membesar, dinding sel pecah, dan terjadi fragmentasi sel.

Kata kunci: Antioksidan, Efek sitotoksik, Aktivitas antiproliferasi, Ekstrak, *Curcuma zedoaria*

PENDAHULUAN

Kunyit putih (*Curcuma zedoaria* Rosc.) adalah salah satu jenis dari keluarga Zingiberaceae yang sangat penting dalam pengobatan tradisional dan industri obat. Beberapa jenis kunyit telah lama menjadi komoditas perdagangan dunia. Kebutuhan kunyit dunia hingga saat ini mencapai ratusan ribu ton/tahun yang dipenuhi oleh negara-negara seperti India, Haiti, Srilanka, Cina, dan Indonesia. Rimpang (*rhizom*) tanaman *Curcuma zedoaria* mengandung senyawa penting untuk pengobatan tradisional dan industri obat-obatan. Ada perbedaan antara *Curcuma zedoaria* asal dataran Cina, Jepang, dan Korea dengan *Curcuma zedoaria* asal Asia Selatan. Hasil perbandingan *Curcuma sp.* (*gajutsu* dalam bahasa Jepang) di Pulau Yakushima, Jepang, dengan *Curcuma aeruginosa* dan *Curcuma zedoaria* di Jawa, Indonesia, berdasarkan urutan gen *trnK*, pola random DNA polimorfik (RAPD) dan komponen minyak atsirinya, menunjukkan bahwa *Curcuma sp.* di Yakushima lebih dekat kepada *Curcuma aeruginosa* (temu hitam) daripada *Curcuma zedoaria* yang ada di Jawa.¹

Curcuma zedoaria Rosc., mempunyai kandungan utama senyawa-senyawa arilheptanoid (kurkuminoid), minyak atsiri dengan bermacam-macam monoterpen dan seskuiterpen, dan polisakarida. Aktivitas farmakologik menunjukkan adanya efek antimikroba, antiradang, antikanker, hepatoprotektif, dan insektisida.² Senyawa-senyawa kurkuminoida seperti kurkumin, demetoksi-kurkumin, dan bisdemetoksi-kurkumin adalah komponen bioaktif dalam genus *Curcuma* yang diketahui mempunyai efek sitotoksik terhadap OVCAR-3 (*human ovarian cancer cells*) dan secara tradisional digunakan sebagai pengobatan kanker mulut rahim.¹ Kurkumin adalah zat warna kuning, yang terdapat pada jenis rimpang *Curcuma* dengan kadar yang bervariasi yaitu sebesar 0,51% pada *C. xanthoriza*; 0,19% pada *C. mangga*, dan 0,1% pada *Curcuma zedoaria*.⁹ Satu senyawa polisakarida yang berikatan dengan protein telah diisolasi dari rimpang *C. zedoaria* menunjukkan aktivitas sebagai antitumor terhadap *Ehrlich ascites* tumor pada mencit.³

Senyawa bioaktif lain adalah seskuiterpenoida turunan *Curcumol* dan *curdione* yang juga menunjukkan efek menghambat pertumbuhan

sarcoma-180 pada mencit.³ Aktivitas mitogenik juga diperlihatkan oleh fraksi protein dari *Curcuma zedoaria* baik terhadap sel limfosit perifer darah manusia maupun sel mencit.⁴ Aktivitas biologi lain yang bermanfaat untuk kesehatan tubuh manusia dilaporkan oleh banyak peneliti.^{5,6}

Minyak atsiri dari rimpang *Curcuma zedoaria* bermanfaat sebagai antikanker dan anti-tumor. Etil-p-metoksisinamat yang terdapat pada rimpangnya juga menunjukkan sifat antifungal.⁷ Satu seskuiterpen baru, yaitu furanogermenone yang diisolasi dari rimpang *Curcuma zedoaria* memberikan efek peningkatan SGOT dan SGPT pada tikus yang diinduksikan CCl₄ dan tidak menunjukkan kerusakan pada hati.⁶ Fraksi B-1 yang diperoleh dari pemurnian fraksi B adalah senyawa tunggal dengan prediksi formula C₁₅H₁₆O₂ yang adalah senyawa 1(10), 5, 7, (11)8, dan Guaiantetraen-12,8-olide (gweiikurkulakton), termasuk senyawa bioaktif antiproliferasi terhadap sel HeLa.⁸

Variasi kemanfaatan tumbuhan *Curcuma zedoaria* diduga karena senyawa yang terkandung dalam rimpang *Curcuma zedoaria* tersebut, terutama senyawa yang bersifat antioksidan. Antioksidan merupakan senyawa yang dapat menghambat spesies oksigen reaktif/spesies nitrogen reaktif (ROS/RNS) dan juga radikal bebas sehingga dapat mencegah penyakit-penyakit yang terkait dengan radikal bebas seperti karsinogenesis, kardiovaskular, dan penuaan.⁹ Dalam arti lain, antioksidan adalah senyawa yang dapat melawan dan menetralkan radikal bebas dan memperbaiki kerusakan oksidatif pada molekul biologis.¹⁰

Penelitian ini bertujuan untuk membandingkan aktivitas antioksidan dan aktivitas anti-proliferasi, sifat oksidator, tipe ekstrak air, dan ekstrak etanol dari ekstrak rimpang kunyit putih (*Curcuma zedoaria* Rosc.), dan pengaruh sitotoksiknya pada sel HeLa.

METODE PENELITIAN

Bahan penelitian berupa tumbuhan kunyit putih (*Curcuma zedoaria* Rosc.) dikoleksi dari kebun percobaan Laboratorium Treub, Pusat Penelitian Biologi LIPI, Bogor. Identifikasi tumbuhan dilakukan di Herbarium Bogoriense. Simplisia rimpang *C. zedoaria* dikering-anginkan,

selanjutnya digiling dan diayak (*mesh* 8) sehingga berbentuk serbuk halus. Sel Hela untuk bahan pengujian aktivitas antiproliferasi diperoleh dari Fakultas Kedokteran Hewan IPB, Bogor.

Bubuk halus rimpang *C. zedoaria* dibuat dalam dua tipe ekstrak yaitu air dan ekstrak etanol. Ekstrak air dibuat dari bahan 200 gram yang dipanaskan dengan air sebanyak 500 ml pada suhu 100°C selama satu jam, dihitung setelah penangas air mulai mendidih sambil diaduk merata. Bahan didinginkan, disaring menggunakan corong *buchner* dan pompa vakum. Filtrat dibilas dengan air panas (500 ml) beberapa kali. Filtrat dipekatkan dengan *rotavapor* sehingga volumenya menjadi 100 ml. Selanjutnya ekstrak air dikeringkan dengan *freeze dryer*.

Ekstrak etanol dibuat dari bahan 200 gr yang dimaserasi (direndam tanpa pemanasan) dengan etanol 95% selama 24 jam. Filtrat dikumpulkan, dipekatkan dengan *rotavapor* tekanan rendah sampai diperoleh ekstrak kental etanol. Bahan tersebut lalu dikeringkan di atas penangas air sehingga diperoleh ekstrak etanol kering.

Aktivitas antioksidan ditentukan berdasarkan nilai peroksida (POV) dan sifat penangkal superoksida (SO). Nilai peroksida dihitung dengan cara titrasi iodometri. Sebagai larutan titrannya adalah natrium tiosulfat 0.01 N ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$), berdasarkan *official method of analysis* dari AOAC.¹¹ Perhitungan diulang sebanyak tiga kali (triplo), dan α -tokoferol (vit. E) digunakan sebagai kontrol positif. Dari hasil titrasi tersebut dicatat jumlah natrium tiosulfat yang terpakai (dalam ml). Pemeriksaan nilai oksida bertujuan untuk mengetahui apakah komponen bioaktif yang terkandung dalam ekstrak air dan etanol rimpang kunyit putih mempunyai sifat oksidator atau reduktor. POV adalah jumlah mili-ekuivalen peroksida per kg sampel.¹¹ Semakin kecil nilai peroksida, semakin besar sifat reduktor dari komponen bioaktif tersebut. Nilai peroksida dihitung dengan menggunakan rumus:

$$\text{POV} = S \times N \times 1000/\text{gram sampel} \quad (1)$$

Keterangan:

S = ml larutan Natrium tiosulfat

N = normalitas dari Natrium tiosulfat

Penangkal Super-Oksida (SO)

Sifat penangkal superoksida (SO) ditentukan berdasar metode ferritiosianat (FTC) yang dikembangkan oleh Sari dkk.¹¹ Sampel dilarutkan dalam 2 ml *buffer* fosfat 0,1 M pH 7,0; 1 ml air; dan 2 ml asam linoleat 50 mM dalam etanol 99,5%. Campuran reaksi tersebut diinkubasi selama 14 hari pada suhu 37°C. Setiap hari campuran reaksi diambil 50 μL dan ditambahkan dengan 6 ml etanol 75%, 50 μl amonium tiosianat 30%, dan 50 μl FeCl_2 20 mM dalam HCl 3,5%. Nilai absorbansinya diukur pada panjang gelombang 500 nm. Dosis ekstrak air dan etanol yang diamati adalah 1, 5, dan 10%, dan vitamin E 10%. Dengan kata lain α -tokoferol digunakan sebagai kontrol positif.

Data yang diperoleh selanjutnya dihitung daya penghambatannya (%) terhadap oksidasi asam linoleat, dengan cara menghitung selisih antara absorbansi sampel ekstrak *Curcuma zedoaria* dengan absorbansi asam linoleat. Campuran tanpa ekstrak digunakan sebagai kontrol negatif.

Uji Aktivitas Antiproliferasi

Antiproliferasi adalah persentase (%) aktivitas penghambatan jumlah sel tumbuh menjadi kurang dari 50%. Pengujian dilakukan secara *in vitro* terhadap sel *human epithelial cells* (Hela). Sel lestari (*line cells*) dibiakkan dengan konsentrasi 10^3 sel/ml di dalam *24-well dish* dengan media tumbuh *Dulbecco's modified eagle medium* (DMEM) dan 10% *foetal calf serum* (FCS).¹³ Media pembiakan adalah inkubator CO_2 dan dibiakkan selama 24 jam. Perlakuan ekstrak masing-masing dengan konsentrasi 0,1; 1,0; 10,0; dan 100 $\mu\text{g/ml}$ dimasukkan ke dalam media tumbuh yang berisi sel lestari Hela. Masing-masing perlakuan diulang sebanyak tiga kali. Inkubasi dilanjutkan kembali selama 24 jam sebelum dipanen.

Sel Hela dipanen dan dihitung jumlah total selnya pada masing-masing *dish* dengan menggunakan *hemacytometer* dengan pewarna *triphan blue*. Hasilnya dibandingkan dengan kontrol negatif. Hasil pengujian aktivitas antiproliferasi adalah data inhibisi yang diolah menggunakan persamaan regresi untuk menentukan konsentrasi ekstrak yang mampu menghambat pertumbuhan sel sebanyak 50% (IC50).¹¹

Uji Sitotoksik Sel

Endapan sel yang berasal dari perlakuan uji antiproliferasi direndam dalam glutaraldehid 2% selama 24 jam, ditambahkan *chocodylate buffer*, dan direndam selama 20 menit.⁸ Larutan disentrifus dan *supernatant* dipisahkan. Endapan yang tertinggal ditambahkan osmium tetraoksida 1% sehingga terendam dan dibiarkan selama satu jam. Endapan lalu dikeringkan, kemudian direndam berturut-turut dengan alkohol 70%, 80%, 95%, dan alkohol absolut selama 20 menit. Endapan disuspensikan dengan penambahan butanol. Suspensi kemudian diletakkan di atas *cover slip* yang telah direkatkan pada stub aluminium. Suspensi yang telah mengering di atas *cover slip* kemudian dilapisi dengan emas melalui proses vakum selama 20 menit dan diamati dengan *scanning electron microscopy* (JSM 5000).

Pada data yang diperoleh dari sifat penangkal SO (*superoxide scavenging properties*) akan dilakukan uji *Kuscall Wallis* dengan $\alpha=0,05$. Jika terdapat perbedaan, dilakukan tes lanjutan yakni uji statistik *Mann Witney*. Pengolahan data dilakukan secara komputasi dengan menggunakan piranti lunak (*software*) program pengolahan data statistik SPSS 17.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Aktivitas antioksidan untuk menghambat oksidasi lemak dalam suatu bahan ditentukan oleh bilangan peroksida (POV) dan superoksida (SO). Bilangan peroksida (POV) berkisar antara 763,78–995,55. Perbandingan rata-rata POV dari ekstrak air dan ekstrak etanol adalah 837,32 berbanding 889,31. Nilai peroksida tersebut lebih besar dibanding kontrol positif α -tocopherol yang hanya 777,35 (Tabel 1). Perbandingan rata-rata POV dari ekstrak air berbanding etanol dari *Curcuma zedoaria* Rosc. adalah 837,32 : 889,31. Nilai peroksida hasil pengujian tersebut lebih besar dibanding kontrol positif α -tocopherol 777,35. Semakin kecil nilai peroksida, semakin besar sifat reduktor terhadap radikal bebas oleh komponen bioaktif dari ekstrak tersebut.

Perbedaan konsentrasi ekstrak *Curcuma zedoaria*, baik ekstrak air maupun ekstrak etanol berkaitan dengan kadar komponen bioaktif yang menentukan nilai peroksida dan berpengaruh pada aktivitas antioksidan. Nilai oksida adalah jumlah mili-ekuivalen peroksida per kg sampel ekstrak. Oleh karena itu, pada konsentrasi ekstrak rimpang *Curcuma zedoaria* yang sedikit (1%), bahan menjadi bersifat reduktor.¹² Pada pengujian ini konsentrasi tinggi ekstrak (10%) bersifat oksidator terhadap radikal bebas karena makin banyak komponen bioaktif yang terkandung dalam ekstrak (Tabel 1).

Tabel 1. Nilai Peroksida (POV) Ekstrak Rimpang Kunyit Putih (*Curcuma zedoaria*)

	Na ₂ S ₂ O ₃ (ml)	N (Na ₂ S ₂ O ₃)	Ekstrak (g)	POV
a-tokoferol (vit. E)	3,90	0,0989	0,505	763,78
	4,00	0,0989	0,504	784,92
	4,00	0,0989	0,505	783,36
		Rata-rata = 777,35		
Ekstrak H ₂ O	4,20	0,0989	0,504	824,16
	4,30	0,0989	0,502	847,15
	4,25	0,0989	0,500	840,65
		Rata-rata = 837,32		
Ekstrak EtOH	4,50	0,0989	0,506	879,54
	4,60	0,0989	0,508	895,55
	4,55	0,0989	0,504	892,84
		Rata-rata = 889,31		
Konsentrasi rata-rata:		Ekstrak air		Ekstrak etanol
Tinggi (10%)		790,44		785,82
Sedang (5%)		838,50		830,46
Rendah (1%)		884,25		875,30

Manfaat komponen bioaktif dalam ekstrak *Curcuma zedoaria* berupa minyak atsiri dilaporkan.^{7,5} Minyak atsiri bermanfaat sebagai antikanker dan antitumor. Etil-p-metoksisinamat yang terdapat pada rimpangnya juga menunjukkan sifat antifungal. Satu seskuiterpen baru yaitu furanogermenone yang diisolasi dari rimpang *C. zedoaria* memberikan efek peningkatan SGOT dan SGPT pada tikus yang diinduksikan CCl₄ dan tidak menunjukkan kerusakan pada hati.⁶ *C. zedoaria* juga mengandung kurkumin di dalam ekstrak rimpangnya.⁹ Kurkumin merupakan senyawa polifenol (Gambar 1) yang terdapat dalam rimpang kunyit (*Curcuma longa* L.) dengan aktivitas biologi sebagai antioksidan, antiinflamasi, kemopreventif, dan kemoterapi.⁵ Di India, Cina, dan negara-negara Asia Tenggara seperti Indonesia, zat warna kuning dari kurkuma dimanfaatkan sebagai bahan tambahan makanan, bumbu, maupun obat-obatan yang tidak berakibat toksik.³

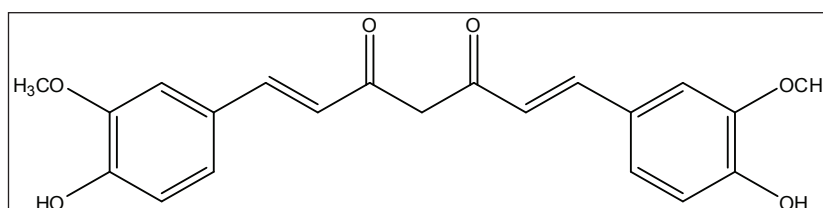
Aktivitas antioksidan juga diamati berdasarkan nilai superoksida, dengan menghitung nilai absorbansi atau polarisasi cahaya ekstrak. Perbandingan nilai absorbansi (A) berbeda cukup mencolok antara tipe ekstrak air : ekstrak etanol : kontrol positif : kontrol negatif (Tabel 2). Nilai absorbansi (A) semua perlakuan meningkat seiring dengan lama waktu penyimpanan, karena akumulasi aktivitas bioaktif. Aktivitas antioksidan yang nyata pada konsentrasi ekstrak *Curcuma zedoaria* adalah 10%. Nilai absorbansi (A) berbeda cukup mencolok antara tipe ekstrak air dan ekstrak etanol serta antara kontrol positif (K+) dan kontrol negatif (K-). Nilai absorbansi (A) ekstrak air meningkat seiring dengan lama waktu penyimpanan. Kontrol negatif (K-) mencapai nilai A tertinggi dalam waktu 8–9 hari (A=0,924 sampai A > 1), sedangkan nilai A kontrol positif (K+) adalah A=0,313 setelah 14 hari (Tabel 2). Konsentrasi ekstrak yang berbeda secara nyata nilai absorbansinya adalah antara konsentrasi

1% (0,409) dan konsentrasi 10% (0,267). Nilai absorbansi berbanding terbalik dengan konsentrasi ekstrak atau banyaknya komponen bioaktif dalam ekstrak. Aktivitas antioksidan semakin besar ketika komponen bioaktif ekstrak makin banyak, karena pada saat ini nilai absorbansi atau polarisasi cahaya ekstrak semakin kecil.¹³

Perbedaan aktivitas antioksidan yang nyata dibanding kontrol negatif dalam pengujian ini adalah pada ekstrak *Curcuma zedoaria* pada dosis tinggi 10%. Ekstrak etanol setelah 14 hari menunjukkan nilai A 1% (0,409), 5% (0,207), dan 10% (0,369). Ekstrak etanol pada konsentrasi tinggi (10%) menunjukkan hal yang agak berbeda dengan ekstrak air pada konsentrasi yang sama. Ini berarti pada konsentrasi tersebut aktivitas ekstrak etanol lebih bersifat sebagai prooksidan. Ekstrak tersebut menghasilkan senyawa maupun reaksi-reaksi kimia yang cenderung menghasilkan spesies oksigen reaktif atau spesies oksigen yang potensial menghasilkan radikal bebas.

Aktivitas antioksidan berdasarkan superoksida (SO) yang terbentuk selama proses peroksidasi lipid (asam linoleat) dapat diukur dengan metode feritiosianat (FTC). Semakin kecil perolehan nilai A (absorban), semakin besar aktivitas (daya) penangkal SO komponen bioaktif tersebut. Nilai absorbansi ekstrak berbanding terbalik dengan aktivitas penangkal SO. Dari hasil pengujian aktivitas antioksidan dengan metode FTC diperoleh peningkatan nilai absorban secara bertahap pada ekstrak air dan etanol (1, 5, dan 10%) serta kontrol positif (α -tokoferol) selama 14 hari, sedangkan nilai absorban kontrol negatif telah mencapai maksimal (A > 1) pada hari ke-9. Nilai absorban sampel pada hari ke-14: a) ekstrak air 1% (0,409), 5% (0,398), dan 10% (0,267); b) ekstrak etanol 1% (0,409), 5% (0,207), dan 10% (0,369); dan c) K(+)/ α -tokoferol (0,313) (Tabel 2).

Semakin tinggi konsentrasi ekstrak, semakin besar komponen bioaktif dalam ekstrak, sehingga



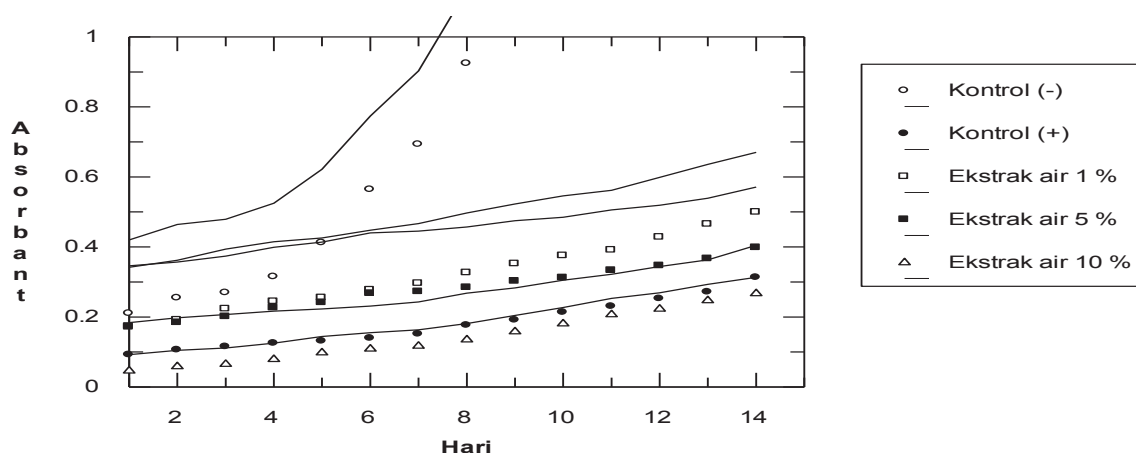
Gambar 1. Struktur Kurkumin (Wilson dkk. 2005)

nilai absorbannya semakin berkurang, yang disebabkan oleh aktivitas (daya) antioksidan yang makin bertambah. Nilai absorbansi ekstrak air dan etanol pada dosis tinggi (10%) pada hari ke-14 masing-masing adalah 0,267 dan 0,3; sedangkan

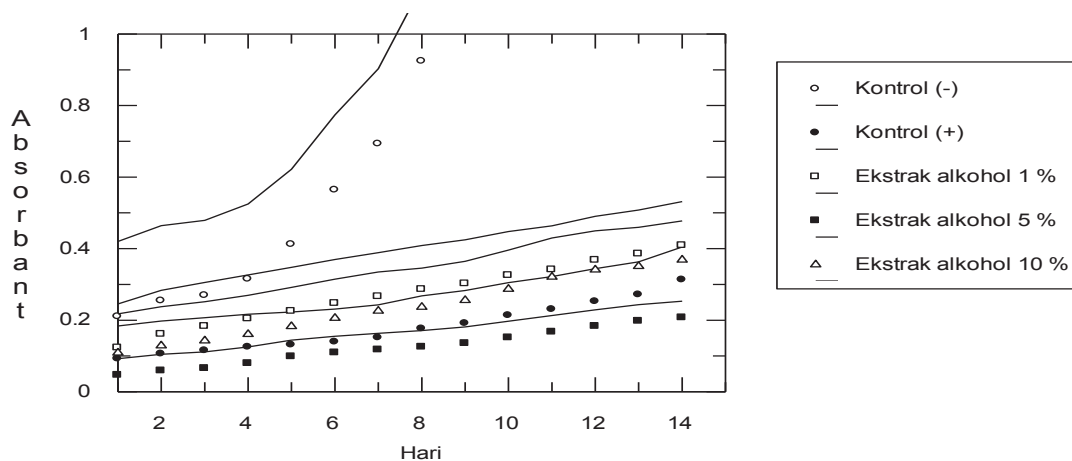
pada dosis rendah (1%) adalah 0,409 dan 0,40 (Gambar 2 dan 3). Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak air dan etanol konsentrasi tinggi 10% mempunyai aktivitas yang bersifat pro-oksidan, yang mengandung reaksi/senyawa penghasil radikal bebas.

Tabel 2. Absorbansi (A) Ekstrak Air dan Etanol *Curcuma zedoaria*

Hari Ke-	K(-)	K(+)	Ekstrak H ₂ O			Ekstrak EtOH		
			1%	5%	10%	1%	5%	10%
1	0,210	0,092	0,171	0,173	0,046	0,123	0,046	0,106
2	0,254	0,106	0,191	0,184	0,058	0,161	0,058	0,129
3	0,269	0,115	0,223	0,191	0,065	0,183	0,065	0,143
4	0,315	0,125	0,244	0,206	0,079	0,204	0,079	0,161
5	0,412	0,131	0,255	0,221	0,098	0,225	0,098	0,183
6	0,564	0,139	0,277	0,237	0,109	0,247	0,109	0,206
7	0,693	0,151	0,296	0,242	0,117	0,266	0,117	0,226
8	0,924	0,176	0,326	0,254	0,135	0,286	0,125	0,237
9	> 1	0,191	0,352	0,272	0,158	0,302	0,135	0,256
10	> 1	0,213	0,375	0,295	0,181	0,325	0,151	0,287
11	> 1	0,230	0,391	0,323	0,207	0,341	0,167	0,321
12	> 1	0,252	0,428	0,346	0,223	0,368	0,183	0,341
13	> 1	0,271	0,465	0,366	0,247	0,385	0,197	0,351
14	> 1	0,313	0,409	0,398	0,267	0,409	0,207	0,369



Gambar 2. Grafik Uji Aktivitas Ekstrak H₂O Rimpang Kunyit Putih (*Curcuma zedoaria*)



Gambar 3. Grafik Uji Aktivitas Ekstrak EtOH Rimpang Kunyit Putih (*Curcuma zedoaria*)

Uji aktivitas antiproliferasi atau penghambatan tumbuh sel dengan cepat secara *in vitro* memperlihatkan bahwa masing-masing ekstrak uji memberikan hasil yang bermakna pada perlakuan konsentrasi tinggi (Tabel 3). Kondisi ekstrak pada konsentrasi rendah 0,1–10 µg/ML menunjukkan aktivitas sebagai antiproliferasi dengan penghambatan kurang dari 50%. Pada konsentrasi ekstrak tinggi 100 µg/ML penghambatan lebih dari 50% menghasilkan LC₅₀ dengan konsentrasi ekstrak *Curcuma zedoaria* 60,3 µg/ML. Hal ini menunjukkan bahwa dosis tinggi ekstrak *Curcuma zedoaria* bersifat efektif menghambat atau memiliki proses biologi yang mematikan sel HeLa. Senyawa-senyawa utama, yaitu arilheptanoid (kurkuminoid), minyak atsiri dengan bermacam-macam monoterpen dan seskuiterpen serta polisakarida efektif menekan pertumbuhan sel HeLa atau bersifat antikanker.^{14,15} Hasil penelitian lain menunjukkan bahwa senyawa bioaktif sebagai antiproliferasi pada ekstrak *Curcuma zedoaria* adalah senyawa gwekukulakton/seskuiterpen lakton.⁸ Peningkatan proliferasi sel terjadi karena adanya aktivasi beberapa onkogen

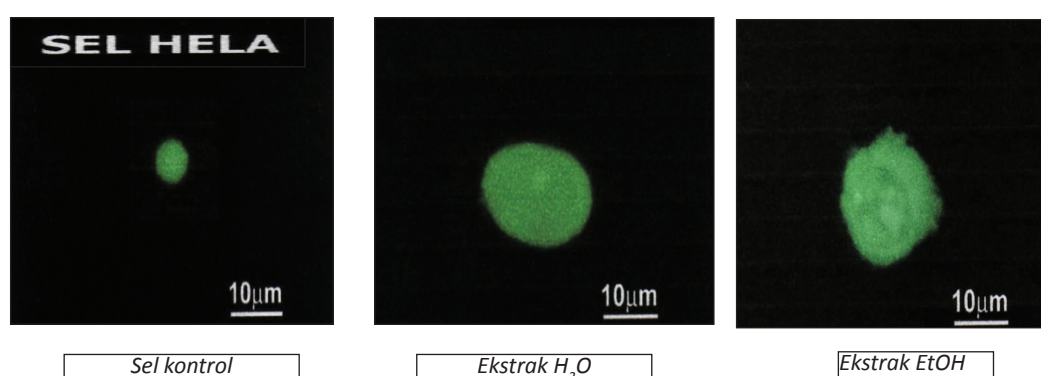
yang terlibat dalam signal mitogenik seperti *ras*, sedangkan inhibisi terhadap proses biologi yang mematikan sel kanker merupakan akibat dari adanya overekspresi *bc1*.¹⁵

Tang dan Eisenbrand¹³ melaporkan bahwa *Curcuma zedoaria* juga mengandung kurkumin yang menghambat pertumbuhan sel kanker melalui tiga mekanisme, yaitu: 1) menghambat penggabungan [3H] uridin kepada sel HeLa; 2) menghambat penyatuan [3] uridin kepada RNA; dan 3) menghambat penyatuan [3] leusin kepada protein pada proses sintesa protein.¹³ *Scanning electron microscopy* (SEM) memberikan gambaran perubahan morfologi sel HeLa pada dosis ekstrak uji 100 µg/ML. Ekstrak air menunjukkan bahwa sel HeLa makin membesar dan dinding sel belum pecah dibandingkan sel kontrol, sedangkan dengan pemberian ekstrak etanol sel HeLa membesar, dinding sel pecah, dan terjadi fragmentasi sel (Gambar 4.).

Aktivitas antioksidan dan antiproliferasi dari kunyit putih yang disebabkan oleh kandungan kimia dari minyak atsirinya antara lain terlihat pada turunan germakrena, yakni elemene.^{6,16}

Tabel 3. Uji Antiproliferasi Ekstrak Kunyit Putih (*Curcuma zedoaria*) terhadap Sel HeLa

No.	Viabilitas sel (%) Kontrol	Inhibisi (%)							
		Ekstrak H ₂ O (µg/ml)				Ekstrak EtOH (µg/ml)			
		0,1	1,0	10,0	100	0,1	1,0	10,0	100
1	97	92	85	57	49	88	60	50	32
2	95	91	89	54	45	87	61	51	34
3	94	92	88	52	48	88	62	50	30
Rerata	95,3	91,7	87,3	54,3	47,3	87,6	61,0	50,3	32,0
LC₅₀		Kontrol (tanpa ekstrak <i>C.zedoaria</i>)				Konsentrasi rendah (0,1–10µg/ML)		Konsentrasi tinggi (100µg/ML)	
		4,7				37,6		60,3	



Gambar 4. Pengaruh Pemberian Ekstrak Air dan Etanol *Curcuma zedoaria* (100 µg/ml) terhadap Morfologi dan Inti Sel HeLa

Selain itu, seperti halnya suku *Curcuma* lain, spesies ini juga mengandung senyawa kurkuminoida dan flavonoida. Kedua senyawa tersebut diketahui bersifat sebagai antioksidan.^{17,18} Berbagai senyawa aktivitas antioksidan yang terkandung dalam rimpang kunyit putih inilah yang menyebabkan pada tingkat konsentrasi lebih tinggi atau keadaan tertentu aktivitasnya justru berubah menjadi prooksidan. Prooksidan adalah suatu keadaan atau tingkat tertentu di mana suatu antioksidan akan berubah aktivitasnya menjadi oksidan (oksidator).¹⁶ Hal inilah yang menyebabkan munculnya aktivitas sitotoksik dari kunyit putih terutama turunan germakrena, kurkumanoida, dan flavonoida.^{18,15}

Aktivitas biologi lain yang bermanfaat untuk kesehatan tubuh manusia berupa minyak atsiri.⁵ Minyak atsiri dari rimpang *Curcuma zedoaria* bermanfaat sebagai antikanker dan antitumor. Etil-p-metoksisinamat yang terdapat pada rimpangnya juga menunjukkan sifat antifungal.⁷ Satu seskuiterpen baru, yaitu furanogermenone yang diisolasi dari rimpang *Curcuma zedoaria* memberikan efek peningkatan SGOT dan SGPT pada tikus yang diinduksikan CCl₄ dan tidak menunjukkan kerusakan pada hati.⁶

KESIMPULAN

Baik tipe ekstrak air maupun ekstrak etanol rimpang kunyit putih mengandung antioksidan yang nilai peroksida dan superoksidadanya lebih tinggi dibanding kontrol positif, yaitu α -tocopherol. Potensi antioksidan dari ekstrak *Curcuma zedoaria* bersifat nyata pada dosis tinggi 10%, akan tetapi kurang bermakna pada konsentrasi rendah (1 dan 5%) ketika dibandingkan potensi kontrol positif (α -tocopherol) dan kontrol negatif (campuran tanpa ekstrak).

Aktivitas antiproliferasi dari ekstrak *Curcuma zedoaria* pada konsentrasi tinggi 10% bersifat efektif menghambat pertumbuhan sel Hela dan menghasilkan LC₅₀ pada konsentrasi ekstrak *C. zedoaria* 60,3 μ g/ML. Pemberian ekstrak etanol konsentrasi tinggi mengubah bentuk sel Hela dengan ukuran makin membesar, dinding sel pecah, dan terjadi fragmentasi sel.

Penelitian potensi aktivitas antioksidan perlu dilanjutkan, terutama penelitian dengan metoda *in vivo* dan penelitian komponen bioaktif ekstrak *Curcuma zedoaria* Rosc.

DAFTAR PUSTAKA

- ¹ Kitamura, C., T. Nagoe, M. S. Prana, A. Agusta, K. Ohashi, and H. Shibuya. 2007. "Comparison of *Curcuma* sp. in Yakushima with *C. aeruginosa* and *C. zedoaria* in Java by trnK gene sequence, RAPD pattern, and essential oil component". *Journal of Natural Medicines* Vol. 61, Issue 3, pp. 239–243.
- ² Windono, Tri, Parfati, dan Nani. 2002. "*Curcuma zedoaria* (Berg.) Rosc.: kajian pustaka kandungan kimia dan aktivitas farmakologik". Dalam *Prosiding Seminar Nasional Tumbuhan Obat Indonesia XXI*, 27–28 Maret 2002, Fakultas Farmasi Universitas Surabaya.
- ³ Kokan, T., and J. Tsumura. 1988. "Antitumor protein-bound polysaccharides from curcuma plants". *Jpn Kokai Tokyo Koho JP 60 67, 428 (85 67, 428) (CA 103:92834w)*.
- ⁴ Tachibana, Y., and K. Kawanishi. 1992. "Mitogenic activities in protein fraction of crude drugs". *Planta Med.* 58, pp. 250–254.
- ⁵ Wilson, B., G. Abraham, V. S. Manju, M. Mathew, B. Vimala, S. Sundaressan, and B. Nambisan. 2005. "Antimicrobial activity of *Curcuma zedoaria* and *Curcuma malabarica* tubers". *J. Ethnopharmacol* 99(1), pp. 147–151.
- ⁶ Yamahara, J., H. Matsuda, T. Sawada, H. Shibuya, A. Matsumura, S. Toyama, and I. Suzuki. 1982. "Effect of crude drugs on experimental liver damages II: effect of new sesquiterpenoid 'furanogermenone'". *Yakugaku Zasshi* 102, pp. 272–277.
- ⁷ Gupta, S. K, A. B. Banejee, and B. Achari. 1976. "Isolation of ethyl-p-methoxycinnamate, the major antifungal principle of *Curcuma zedoaria*". *Lloydia* 39, pp. 218–222.
- ⁸ Sumarni, R. 2006. "Karakterisasi kimiawi dan aktivitas antiproliferasi sel lestari tumor serta aktivitas fagositosis secara *in vitro* dari fraksi bioaktif rimpang temu putih (*Curcuma zedoaria* Rosc.)". *Disertasi Doktorat*. Bogor: Sekolah Pascasarjana IPB. 124 hlm.
- ⁹ Halliwell, B., and J. M. C. Gutteridge. 2000. *Free radical in biology and medicine*. New York: Oxford University Press.,

- ¹⁰ Vimala, S., M. I. Adenan, A. R. Ahmad, and S. Rohana. 2003. *Nature's choice to wellness: antioxidant vegetables/ulam*. Kuala Lumpur: Forest Research Institut.
- ¹¹ Sari, R. K., W. S. Syafii, S. S. Achmadi, dan M. Hanafi. 2011b. "Komposisi kimia dan aktivitas antikanker minyak atsiri kayu teras surian (*Toona sinensis*)". *Jurnal Ilmu Teknologi Kayu Tropis* 9(2), pp. 188–197.
- ¹² Kikuzaki, H., S. Hara, K. Yayoi, and N. Nakatani. 1999. "Antioxidative, phenylpropanoids from berries of *Pimenta dioica*". *Journal of Phytochemistry* 52, pp. 1307–1312.
- ¹³ Tang, W., and G. Eisenbrand. 1992. *Chinese drugs of plat origin: chemistry, pharmacology, and use in traditional and modern medicine*. London, Paris, Tokyo: Springer-Verlag., pp. 401–415.
- ¹⁴ Priosoeyanto, B. P., S. Tateyama, R. Yamaguci, and K. Uchida. 1995. "Antiproliferation and colony-forming inhibition activities of recombinant feline interferon (rFeIFN) on various cells *in vitro*". *Can. J. Vet. Res.* 59, pp. 67–69.
- ¹⁵ Syu, W. J., C. C. Shen, J. J. Don, J. C. Ou, G. H. Lee, and C. M. Sun. 1998. "Cytotoxicity of curcumanoids and some novel compounds from *Curcuma zedoaria*". *J. Nat. Prod.* 61, pp. 1531–1534.
- ¹⁶ Huang MT, Ma W, Yen P, Xie JG, Han J, Frenkel K, Grunberger D and Conney AH. 1997. Inhibitory effects of topical application of low doses of curcumin on 12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate-induced tumor promotion and oxidized DNA bases in mouse epidermis. *Carcinogenesis* 18: 83-88
- ¹⁷ Ramanathan, R., N. P. Das, and C. H. Tan. 1994. "Effects of Δ -linolenic acid, flavonoids, and vitamins on cytotoxicity and lipid peroxidation". *Free Rad Biol Med.* 16, pp. 43–48.
- ¹⁸ Robak, J., and R. J. Grejglewski. 1988. "Flavonoids are scavengers of superoxide anions". *Biochem Pharmacol.* 37, pp. 837–841.

