

**EFEK SITOTOKSIK EKSTRAK RIMPANG KUNYIT (*Curcuma domestica Val*)
TERHADAP VIABILITAS SEL HELA**

**THE CYTOTOXIC EFFECT OF TURMERIC (*Curcuma domestica Val*) ON THE
VIABILITY OF HELA CELLS**

Erna Mirani¹, Chodidjah², Absharina Marini Sabila³

¹Bagian Ilmu Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung (UNISSULA) Semarang

²Bagian Ilmu Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung (UNISSULA) Semarang

³Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung (UNISSULA) Semarang

ABSTRAK

Kunyit merupakan tanaman tradisional yang telah diketahui mengandung komponen anti kanker. Kurkumin adalah kandungan utama dari kunyit yang dipercaya memiliki efek sitotoksik terhadap sel kanker. Penelitian ini bertujuan untuk mencari efek sitotoksik ekstrak rimpang kunyit (*Curcuma domestica Val*) dengan berbagai konsentrasi terhadap viabilitas sel HeLa (sel kanker serviks yang dikulturkan) secara in vitro. Penelitian eksperimental dengan *post test only control group design* ini menggunakan sel HeLa yang dibagi menjadi 3 kategori. Kategori pertama sebagai kontrol positif, kedua sebagai kontrol negatif, dan ketiga sebagai perlakuan (sel HeLa diberi ekstrak dengan berbagai konsentrasi). Konsentrasi ekstrak rimpang kunyit yang dipakai yaitu 1 µg/ml, 2,5 µg/ml, 5 µg/ml, 10 µg/ml, 25 µg/ml, 50 µg/ml, 100 µg/ml, 250 µg/ml, 500 µg/ml, dan 1.000 µg/ml. Jumlah sel HeLa yang hidup dan mati dinilai dengan metode *direct counting* dengan pewarnaan *trypan blue*. Efek sitotoksik ekstrak didapatkan dari LC50 dengan menggunakan analisis probit. Konsentrasi ekstrak rimpang kunyit yang memberikan efek sitotoksik terbesar adalah pada 250 µg/ml yakni mampu mematikan 74,72 % sel HeLa sedangkan yang terendah pada 25 µg/ml yakni mematikan 44,72 % sel HeLa. Pada penelitian ini LC50 didapatkan hasil 0,657 µg/ml. Kesimpulan dari penelitian ini adalah ekstrak rimpang kunyit (*Curcuma domestica Val*) memiliki efek sitotoksik terhadap sel HeLa.

Kata kunci: kanker serviks, viabilitas, sel HeLa, sitotoksik, ekstrak rimpang kunyit, kurkumin, LC50.

ABSTRACT

*Turmeric is a traditional herb that has been known to contain anti-cancer components. Curcumin is the main compound of turmeric known to have a cytotoxic effect against cancer cell. This study aims at finding out the cytotoxic effect of turmeric rhizome extract at various concentrations on viability of cultured HeLa cell in vitro. In this experimental research with post-test only control group design, the HeLa cells were divided into 3 categories of positive control, negative control and treated groups (HeLa cells were treated by various concentrations). Turmeric rhizome extract concentrations used were 1 µg/ml, 2,5 µg/ml, 5 µg/ml, 10 µg/ml, 25 µg/ml, 50 µg/ml, 100 µg/ml, 250 µg/ml, 500 µg/ml, and 1.000 µg/ml. The number of alive and died HeLa cell were evaluated by direct counting method using trypan blue dye. The LC50 was estimated with probit regression analysis. The highest and lowest death rate of HeLa cells were 74.72% at the concentration of 250 µg/ml and 44.72% at the concentration of 25 µg/ml respectively. The LC50 was obtained at the concentration 0.657 µg/ml. In conclusion, turmeric extract (*Curcuma domestica Val*) has a cytotoxic effect on HeLa cell.*

Keywords: cervical cancer, viability, HeLa cell, cytotoxic, turmeric extract, curcumin, LC50.

PENDAHULUAN

Kanker serviks atau kanker serviks merupakan masalah kesehatan di seluruh dunia. Kanker serviks adalah kanker pembunuh ketiga pada wanita, dengan 529.000 kasus baru di dunia pada tahun 2008 (IARC, 2010). Pengobatan untuk kanker serviks (sitostatika) merusak sel-sel berbagai jaringan tubuh. Jaringan yang paling banyak mengalami kerusakan tentu saja adalah organ-organ yang mempunyai daya proliferasi tinggi, seperti sumsum tulang, mukosa saluran cerna, dan folikel rambut (Reksodiputro, 2006). Karena itu, perlu usaha pencarian agen antikanker dari bahan alami yang mudah didapatkan dan murah dengan efek samping minimum. Keanekaragaman hayati di Indonesia sangat berpotensi dalam penemuan senyawa baru yang berkhasiat sebagai antikanker, salah satunya adalah tanaman kunyit. Zat antikanker yang terkandung di dalam kunyit adalah kurkumin (Karunagaran dkk, 2005). Pemakaian kunyit sebagai komposisi dari obat telah dipakai sekitar sebelum abad 20 sebagai agen anti-inflamasi. Kini, selain sebagai anti-inflamasi, kunyit (khususnya kurkumin) juga ditemukan sebagai anti mutagenik dan molekul anti-kanker. Kurkumin bekerja sebagai anti-oxidant dan mampu menginduksi apoptosis (Singh, S. and Ashok Khar, 2006). Viabilitas sel HeLa (sel kanker serviks yang dikulturkan) mampu diturunkan karena kurkumin menginduksi terjadinya apoptosis.

Kemampuan kurkumin dalam menurunkan viabilitas sel kanker telah dilakukan pada penelitian-penelitian sebelumnya yang dilakukan pada sel kanker serviks maupun sel kanker selain kanker serviks (Jing et al, 2007; Jaiswal, A. S. et al., 2002). Penelitian pengaruh sitotoksik ekstrak total rimpang kunyit terhadap viabilitas sel kanker serviks belum dilakukan, karena itu tujuan utama penelitian ini adalah untuk mempelajari efek sitotoksik ekstrak rimpang kunyit (*Curcuma domestica Val*) dengan berbagai konsentrasi terhadap viabilitas sel HeLa secara in vitro sehingga memungkinkan untuk menjadi dasar bagi penelitian yang akan datang mengenai penanganan dan pengobatan pada kanker serviks serta aplikasi terapan pada kanker serviks di masa depan. Hipotesis penelitian ini yaitu terdapat efek sitotoksik dari ekstrak rimpang kunyit (*Curcuma domestica Val.*) terhadap viabilitas sel HeLa.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini merupakan penelitian *eksperimental* dengan rancangan *Post-test Only Control Group Design*. Variabel bebas dalam penelitian ini adalah ekstrak rimpang kunyit sedangkan variabel terikat dalam penelitian ini adalah viabilitas sel HeLa. Rimpang kunyit yang digunakan berasal dari Pasar Tlogosari Semarang pada Januari 2011. Rimpang kunyit sebanyak 1 kg dibuat ekstrak kering kemudian dibuat dalam berbagai konsentrasi yaitu 1 µg/ml, 2,5 µg/ml, 5 µg/ml, 10 µg/ml, 25 µg/ml, 50 µg/ml, 100 µg/ml, 250 µg/ml, 500 µg/ml, dan 1.000 µg/ml.

Sampel diambil dengan *simple random sampling* yaitu sel HeLa yang telah dikultur selama 6 hari, dengan morfologi yang utuh, dapat berkembang dan tidak rusak. Setelah dipanen, sel HeLa dimasukkan ke 36 sumuran pada *plate cluster 96*. Kepadatan sel HeLa tiap sumuran yaitu 3×10^4 /ml. Penelitian ini dibagi menjadi 3 kategori, kategori I adalah kontrol sel HeLa, kategori II adalah kontrol positif yaitu sel HeLa yang diberikan doksorubisin konsentrasi 100 µg/ml, dan kategori III adalah sel HeLa yang diberi ekstrak rimpang kunyit dengan konsentrasi 1 µg/ml, 2,5 µg/ml, 5 µg/ml, 10 µg/ml, 25 µg/ml, 50 µg/ml, 100 µg/ml, 250 µg/ml, 500 µg/ml, dan 1.000 µg/ml. Kelompok-kelompok ini dilakukan pengulangan sebanyak 3 kali. Untuk melarutkan sampel digunakan DMSO karena DMSO adalah pelarut yang baik untuk ion anorganik maupun senyawa organik (Fessenden dalam Anggrianti, 2008). Selain itu, DMSO relatif tidak toksik terhadap sel, tidak mengganggu pertumbuhan sel, tidak mudah menguap dan biasa digunakan dalam uji kultur. Pada akhir perlakuan masing-masing kelompok dihitung jumlah sel HeLa yang hidup dan mati dengan pewarnaan *trypan blue* pada hemocytometer.

Data viabilitas *post test* tiap kelompok diuji normalitas dan homogenitasnya. Dari uji normalitas dan homogenitas terdapat data yang berdistribusi tidak normal dan tidak homogen. Untuk mengetahui adanya perbedaan efek sitotoksik pada tiap-tiap kelompok, data diuji dengan *Kruskal Wallis*. Hasil signifikansi *Kruskal Wallis* didapatkan $p < 0,05$. Untuk mengetahui kelompok manakah yang berbeda, data diuji dengan uji beda dua kelompok *independent*. Untuk dua kelompok berdistribusi normal, data diuji dengan *Independent T Test* dan untuk data yang tidak berdistribusi normal diuji dengan *Mann-Whithney* (Dahlan, 2006). Efek sitotoksitas diperoleh dari analisis *statistic* regresi probit (Ma'at S dalam Djajanegara, 2010).

HASIL PENELITIAN

Jumlah sel HeLa yang mati tiap kelompok dibuat persentase reratanya, hasilnya dapat dilihat pada **Tabel 1**.

Tabel 1. Rerata Persentase Kematian Sel HeLa

Dosis ($\mu\text{g/ml}$)	Persentase Dosis (%)	Rerata Persentase Kematian (%)
1	0.10	49,12
2.5	0.25	55,79
5	0.50	60,75
10	1.00	72,45
25	2.50	44,72
50	5.00	52,78
100	10.00	71,96
250	25.00	74,72
500	50.00	72,23
1000	100.00	72,20
Doksorubisin	100.00	90.67
Sel	-	2.17

Dari hasil pemeriksaan efek sitotoksik sel hela tiap sumuran, data diuji normalitas (*Shappiro Wilk*) dan homogenitasnya (*Levene test*). Hasil uji normalitas diperoleh bahwa ada dua nilai $p < 0,05$ sehingga dapat disimpulkan bahwa sebaran data tidak normal. Hasil uji homogenitas diperoleh nilai 0,001 berarti $p < 0,05$ sehingga varians data tidak homogen. Dengan demikian uji statistik yang digunakan adalah uji *Kruskal-Wallis*. Hasil uji *Kruskal-Wallis* diperoleh signifikansi 0,022 ($p < 0,05$), maka dapat disimpulkan paling tidak terdapat 2 kelompok yang berbeda secara signifikan. Untuk mengetahui kelompok manakah yang berbeda, data diuji dengan uji beda dua kelompok *independent*. Untuk dua kelompok berdistribusi normal, data diuji dengan *independent T test* dan untuk data yang tidak berdistribusi normal diuji dengan *mann-whithney*.

Efek sitotoksisitas (menghitung nilai LC_{50}) diperoleh dari analisis *statistic* regresi probit (Ma'at S dalam Djajanegara, 2010). Analisis regresi probit didapatkan hasil 0,657 $\mu\text{g/ml}$.

PEMBAHASAN

Konsentrasi ekstrak rimpang kunyit (*Curcuma domestica Val*) yang memberikan efek sitotoksik terbesar pada sel Hela adalah pada 250 $\mu\text{g/ml}$ yakni mampu mematikan 74,72 % sel HeLa sedangkan konsentrasi ekstrak rimpang kunyit yang memiliki efek

sitotoksik terendah yaitu pada 25 µg/ml yakni mematikan 44,72 % sel HeLa. Bila dibandingkan dengan prosentase sel HeLa yang mati pada kelompok kontrol sel (2,17 %), maka ekstrak rimpang kunyit terbukti memiliki efek sitotoksik pada sel HeLa.

Pada penelitian ini hasil dari uji *Kruskal-Wallis* didapatkan nilai $p=0,022$ ($p < 0,05$), hal ini menunjukkan paling tidak terdapat 2 kelompok yang berbeda secara signifikan. Untuk mengetahui kelompok manakah yang berbeda, data diuji dengan uji beda dua kelompok *independent*. Untuk dua kelompok berdistribusi normal, data diuji dengan *independent T test* dan untuk data yang tidak berdistribusi normal diuji dengan *mann whithney*.

Berdasarkan hasil uji *independent* tersebut, kelompok-kelompok yang berbeda secara bermakna yaitu ekstrak konsentrasi 2,5 µl/ml, 5 µl/ml, 25 µl/ml, 500 µl/ml, 1000 µl/ml, kelompok kontrol sel dengan doxorubicin yaitu dengan nilai p berturut-turut (0,008), (0,001), (0,000), (0,011), (0,011), (0,001), kemudian kelompok ekstrak konsentrasi 1 µl/ml, 2,5 µl/ml, 5 µl/ml, 10 µl/ml, 25 µl/ml, 50 µl/ml, 500 µl/ml, 1000 µl/ml dengan kelompok kontrol sel yaitu dengan nilai p berturut-turut (0,049), (0,019), (0,000), (0,000), (0,007), (0,037) (0,000), (0,000), lalu antar kelompok perlakuan yaitu 2,5 µl/ml dengan 10 µl/ml (0,046), 5 µl/ml dengan 10 µl/ml (0,019), 5 µl/ml dengan 25 µl/ml (0,007), 10 µl/ml dengan 25 µl/ml (0,003), 25 µl/ml dengan 500 µl/ml (0,004), dan 25 µl/ml dengan 1000 µl/ml (0,005). Nilai $p=0,050$ mengandung arti bahwa terdapat perbedaan signifikan secara marginal, yaitu didapati pada kelompok ekstrak konsentrasi 100 µl/ml dengan doxorubicin, 100 µl/ml dengan kontrol sel, 250 µl/ml dengan kontrol sel, 25 µl/ml dengan 100 µl/ml, dan 25 µl/ml dengan 250 µl/ml.

LC_{50} merupakan konsentrasi ekstrak rimpang kunyit yang mampu mematikan sel HeLa sebesar 50% populasi. Bila nilai $LC_{50} \leq 30$ µg/ml, zat tersebut bersifat sitotoksik atau berpotensi sebagai antikanker (Hudgson EP *dalam* Djajanegara, 2010). Analisis LC_{50} dilakukan dengan analisis probit (Ma'at S *dalam* Djajanegara, 2010). Pada penelitian ini nilai LC_{50} didapatkan hasil 0,657 µg/ml, karena LC_{50} didapatkan hasil 0,657 (≤ 30 µg/ml) maka ekstrak rimpang kunyit berpotensi sebagai antikanker.

Dalam penelitian ini, terdapat beberapa keterbatasan yakni : bahan yang dipakai yaitu ekstrak rimpang kunyit (*Curcuma domestica Val*) bukan merupakan senyawa tunggal sehingga masih terdiri dari berbagai senyawa yang efeknya terhadap sel HeLa

belum diketahui. Selain itu penelitian ini hanya terbatas pada melihat viabilitas sel HeLa, tidak sampai pada jalur apoptosisnya atau jalur mekanisme apoptosisnya.

KESIMPULAN

Kesimpulan dari penelitian ini adalah ekstrak rimpang kunyit (*Curcuma domestica Val*) memiliki efek sitotoksik terhadap sel HeLa. Konsentrasi ekstrak rimpang kunyit (*Curcuma domestica Val*) yang memberikan efek sitotoksik terbesar pada sel HeLa adalah pada 250 µg/ml yakni mampu mematikan 74,72 % sel HeLa sedangkan konsentrasi ekstrak rimpang kunyit yang memiliki efek sitotoksik terendah yaitu pada 25 µg/ml yakni mematikan 44,72 % sel HeLa. Ekstrak rimpang kunyit memiliki nilai LC₅₀ sebesar 0,657 µg/ml.

SARAN

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang zat aktif dalam rimpang kunyit (*Curcuma domestica Val*) yang paling sitotoksik terhadap sel HeLa untuk mendapatkan hasil yang lebih spesifik dalam penelitian. Selain itu, perlu dilakukan penelitian untuk melihat apoptosis dari sel HeLa atau melihat jalur apoptosisnya.

DAFTAR PUSTAKA

- Anggrianti, P., 2008, *Uji Sitotoksik Ekstrak Etanol 70% Buah Kemukus (Piper cubeba L.) Terhadap Sel HeLa*, Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta, halaman 22, 23.
- Dahlan, M. S., 2006, *Statistika Untuk Kedokteran Dan Kesehatan: Uji Hipotesis Dengan Menggunakan SPSS*, PT ARKANS, Jakarta.
- Djajanegara, Ira dan Priyo Wahyudi, 2010, Uji Sitotoksitas Ekstrak Etanol Herba Ceplukan (*Physalis angulata* Linn.) terhadap Sel T47D secara *In Vitro*, dalam Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia, Vol. 8, No. 1, ISSN 1693-1831, Jakarta Pusat, h: 41,46.
- IARC, 2010, Cervical Cancer Incidence and Mortality Worldwide in 2008, www.globocan.iarc.fr diunduh pada 1 Oktober 2010.
- Jaiswal, A. S., Benjamin P. M., Nirupama G. and Satya N., 2002, β -Catenin-mediated transactivation and cell \pm cell adhesion pathways are important in curcumin (diferuylmethane)-induced growth arrest and apoptosis in colon cancer cells, *Oncogene*, Hal. 8414.
- Jing, Z., Zhao Y., Zhang Y. and Chen W., 2007, Anti-Tumor Effect of Curcumin on Human Cervical Carcinoma HeLa Cells *In Vitro* and *In Vivo*, *Chinese Journal of Cancer Research* 19(1):32-36.

- Karunagaran, D., R. Rashmi and T.R. Santhosh Kumar, 2005, *Current Cancer Drug Target Vol. 5, No. 2*, Bentham Science Publishers Ltd., India, hal. 117, 119, 122.
- Reksodiputro, A. H., 2006, *Buku Ajar Ilmu Penyakit Dalam, Jilid II, Edisi IV*, Pusat Penerbitan Departemen Ilmu Penyakit Dalam Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, Jakarta, hal 864, 865.
- Singh, S. and Ashok Khar, 2006, *Anti-Cancer Agents in Medicinal Chemistry, Vol. 6, No. 3*, Bentham Science Publishers Ltd., India, Hal. 259, 260.

