

AKTIVITAS KEMOPREVENSI EKSTRAK TEMU KUNCI (*Boesenbergia pandurata*) PADA KARSINOGENESIS KULIT MENCIT BALB/C TERINDUKSI RADIASI ULTRA VIOLET

Shanti Listyawati¹, Sismindari², Sofia Mubarika³, Yosi B. Murti⁴

¹ Mahasiswa Bioteknologi SPs. Universitas Gadjah Mada Yogyakarta

¹ Jurusan Biologi FMIPA Universitas Sebelas Maret Surakarta

^{2,4} Fakultas Farmasi Universitas Gadjah Mada Yogyakarta

³ Fakultas Kedokteran Universitas Gadjah Mada Yogyakarta

email: shantilisty@yahoo.com

ABSTRAK

Temu kunci (*B.pandurata*) mengandung senyawa-senyawa yang berpotensi antikanker. Penelitian ini bertujuan untuk mengkaji efek kemoprevensi ekstrak etanolik rimpang temu kunci pada karsinogenesis kulit terinduksi ultra violet. Ekstraksi serbuk rimpang *B. pandurata* dilakukan dengan metode maserasi menggunakan etanol. Hewan uji yang digunakan adalah mencit Balb/C betina umur 28 hari yang dicukur rambut punggungnya, dikelompokkan menjadi 5 kelompok perlakuan, yaitu kelompok kontrol dan empat kelompok perlakuan ekstrak etanolik temu kunci yang diberikan secara oral. Induksi karsinogenesis dengan paparan UV dosis 0,167 J/cm²/hari, sebanyak 60 paparan (5 kali paparan/minggu). Efek penghambatan karsinogenesis kulit dipelajari pada tingkat insidensi dan multiplisitas kanker. Hasil uji menunjukkan bahwa ekstrak etanolik temu kunci mampu menurunkan angka insidensi dan multiplisitas kanker kulit pada mencit Balb/C terinduksi UV. Ekstrak tersebut berpotensi dikembangkan sebagai agen kemoprevensi kanker.

Kata Kunci: *Boesenbergia pandurata*, kemoprevensi, karsinogenesis, ultra violet,

PENDAHULUAN

Indonesia sebagai negara tropis mendapatkan paparan sinar matahari yang cukup tinggi sepanjang tahun. Sinar matahari bermanfaat pada berbagai aspek kehidupan, namun di sisi lain juga mempunyai efek negatif. Paparan radiasi sinar ultraviolet (UV) sebagai bagian dari spektrum sinar matahari apabila mengenai kulit dapat menyebabkan stres oksidatif. Manifestasi stres oksidatif ini muncul dalam bentuk gangguan pada kulit, yaitu *sunburn*, inflamasi, kerusakan DNA dan supresi sistem imun, yang selanjutnya dapat menyebabkan terjadinya penuaan dini, *basal cell carcinoma*, *squama cell carcinoma*, dan melanoma (Katiyar *et al.*, 2007; Lee *et al.*, 2007; Timares *et al.*, 2008).

Insidensi kanker kulit meningkat dalam 10 tahun terakhir ini. *World Cancer Report* menyatakan bahwa radiasi UV dari matahari merupakan penyebab 90% insidensi kanker kulit di USA (Timares *et al.*, 2008). Di Indonesia, insidensi kanker kulit menempati urutan ketiga terbanyak setelah kanker leher rahim (17%) dan kanker payudara (11%) (Soehartati, 2011). Peningkatan insidensi kanker kulit ini salah satunya dipicu oleh semakin tipisnya lapisan ozon yang berfungsi sebagai penyaring radiasi UV, sehingga intensitas radiasi UV yang mengenai permukaan bumi meningkat, hal ini dapat berdampak cukup serius terhadap kehidupan organisme di permukaan bumi.

Berbagai upaya telah dilakukan untuk mengurangi dan mencegah timbulnya kerusakan seluler akibat radiasi UV, diantaranya pemakaian pelindung kimiawi yang diaplikasikan secara topikal. Akhir-akhir ini juga banyak dikembangkan upaya pencegahan melalui bahan atau senyawa suplemen yang dikonsumsi melalui diet. Senyawa bahan alam atau sintesis yang diaplikasikan secara *oral* atau *topical* untuk mencegah, memperlambat, mengurangi dan menghentikan karsinogenesis ini disebut agen kemoprevensi kanker (Surh, 2003 dan Wright *et al.*, 2006). Aktivitas kemoprevensi dapat melalui mekanisme antioksidan, penetralandan eksk resi senyawa karsinogen, atau melalui peningkatan kemampuan *DNA repair* (Beliveau and Gingras, 2007; Katiyar *et al.*, 2007, Surh and Na, 2008; Walaszek *et al.*, 2004).

Salah satu tanaman yang berpotensi untuk dikembangkan sebagai agen kemoprevensi kanker kulit adalah temu kunci (*Boesenbergia pandurata*, (Roxb.) Schelther). Tanaman anggota familia Zingiberaceae ini tumbuh melimpah di Asia termasuk Indonesia (Heyne, 1978). Rimpang temu kunci yang dikenal dengan nama *finger root* (Inggris) atau *kra-chai* (Thailand) dimanfaatkan sebagai pemberi rasa dan aroma masakan, secara empiris juga digunakan sebagai obat tradisional untuk mengobati demam, bengkak, dan perut kembung (Hasnah *et al.*, 1995).

Rimpang temu kunci mengandung senyawa aktif yang dapat bekerja sebagai antioksidan, antiinflamasi, antimutagenik, sitotoksik, antiproliferatif, induktor apoptosis, dan antiangiogenesis (Kirana *et al.*, 2007; Morikawa *et al.*, 2008; Shindo *et al.*, 2006; Tewtrakul *et al.*, 2009; Tuchinda *et al.*, 2002; Yun *et al.*, 2006), sehingga temu kunci berpotensi untuk dikembangkan sebagai agen kemoprevensi kanker. Penelitian



ini mengkaji aktivitas ekstrak temu kunci sebagai agen kemoprevensi kanker kulit, pada model kanker kulit mencit Balb/c terinduksi ultraviolet, dengan fokus kajian pada insidensi dan multiplasitas kanker.

METODE PENELITIAN

Bahan penelitian berupa rimpang temu kunci diambil dari Kalibawang Kulonprogo. Rimpang dibersihkan, dikeringkan, dan dibuat serbuk, selanjutnya diekstraksi dengan metode maserasi dengan etanol. Ekstrak temu kunci (ETK) ini yang digunakan sebagai senyawa uji Hewan uji yang digunakan adalah mencit Balb/C betina umur 28 hari sebanyak 50 mencit yang dicukur rambut punggungnya (Purwandani & Widayari, 2009). Hewan uji dibagi menjadi lima kelompok perlakuan, yaitu: kontrol (A) dan perlakuan ETK dengan dosis 0 (B); 0,4 (C); 0,8(D); dan 1,2(E) mg/g BB/hari. Ekstrak diberikan secara oral mulai 10 hari sebelum paparan UV sampai 20 minggu perlakuan. Paparan UV dilakukan sebanyak 60 kali paparan (seminggu 5 kali paparan), dosis radiasi sebesar 0,167 J/cm². Sebelum paparan UV yang pertama, hewan uji diberi DMBA secara topikal untuk menginisiasi kanker.

Setiap minggu, hewan uji diukur berat badan, ketebalan kulit punggung, jumlah dan kemunculan nodul tumor. Data yang diperoleh dianalisis untuk menentukan insidensi dan multiplasitas tumor.

$$\% \text{ Indidensi} = \frac{\text{jumlah hewan uji yang mengalami tumor}}{\text{Jumlah total hewan uji dalam satu kelompok}} \times 100\%$$

$$\text{Multiplasitas} = \frac{\text{jumlah total nodul tumor dalam satu kelompok}}{\text{Jumlah total hewan uji dalam satu kelompok}}$$

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hewan uji pasca radiasi menunjukkan perubahan warna kulit punggung menjadi kemerahan. Pada minggu ke-5 perlakuan, kulit tampak mulai kasar, keriput, dan menebal terutama pada kelompok kontrol, tetapi ketebalan lipatan kulit punggung tidak menunjukkan perbedaan yang signifikan antar kelompok perlakuan pada setiap periode pengukuran. Radiasi UV yang mengenai kulit dapat meningkatkan terbentuknya radikal bebas sehingga menyebabkan terjadinya stres oksidatif. Stres oksidatif tampak dalam bentuk gangguan pada kulit, yaitu *sunburn*, inflamasi, kerusakan DNA dan supresi sistem imun, yang selanjutnya dapat menyebabkan terjadinya penuaan dini, *basal cell carcinoma*, *squama cell carcinoma*, dan melanoma (Katiyar *et al.*, 2007; Lee *et al.*, 2007; Timares *et.al.*, 2008).

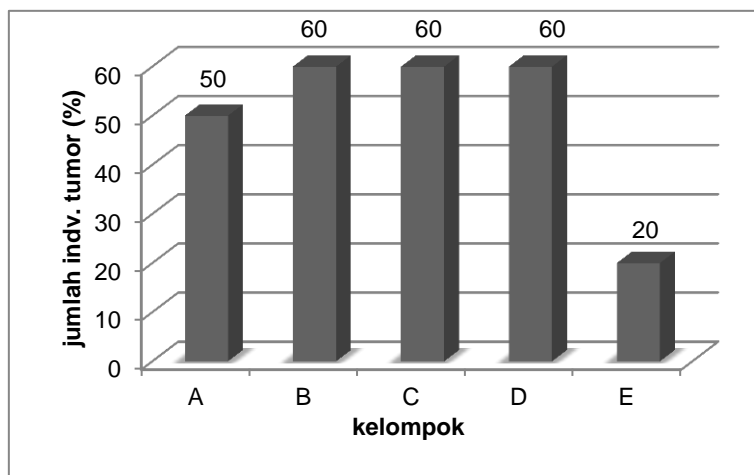
Nodul tumor dalam penelitian ini mulai tampak pada minggu ke-10 pada dua mencit di kelompok kontrol dan perlakuan ETK dosis 0,4mg/g BB/hari. Namun pada dosis 1,2 mg/g BB/hari nodul tumor baru muncul pada minggu ke-19. Hal ini menunjukkan perlakuan ETK menyebabkan penundaan munculnya tumor. Lokasi nodul tersebar pada area punggung yang tidak tertutup rambut, dan merupakan bagian yang langsung terpapar UV (Gambar 1). Ukuran nodul bervariasi, yang diperhitungkan jumlahnya dalam penelitian ini adalah nodul yang berdiameter minimal 0,1 cm. Nodul tumor terbesar adalah 1,0 cm. Kanker kulit akibat paparan radiasi UV terjadi karena terjadi kerusakan DNA dan penekanan sistem imun. Kerusakan DNA yang ditimbulkan oleh radiasi UV adalah karena terbentuknya fotoproduk yang berupa *cyclobutane pyrimidine dimmers* (CPDs) dan *pyrimidine 6-4 pyrimidones* (Ravana *et al.*, 2001). Fotoproduk ini apabila tidak diperbaiki oleh sistem *DNA repair* akan menginduksi mutasi sel-sel epidermis sehingga dapat berkembang menjadi sel kanker kulit (Soehnge *et al.*, 1997)





Gambar 1. A. Mencit dengan kulit normal, tampak mulus, mengkilat, dan elastis. B & C. Mencit setelah 20 minggu terpapar UV, kulit tampak pucat, berkerut, dan kasar, muncul nodul tumor (tanda panah).

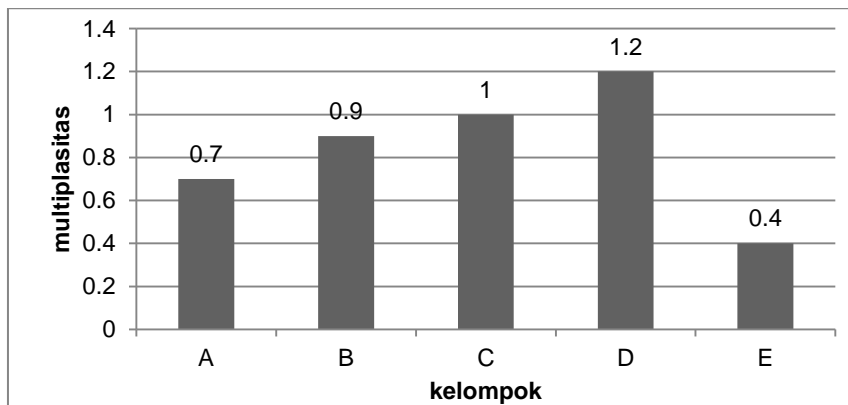
Pada dosis perlakuan tertinggi ini, jumlah hewan uji yang tumor juga paling sedikit dengan angka insidensi 20% (Gambar 2)



Gambar 2. Angka insidensi tumor pada hewan uji

Multiplasitas tumor merupakan angka yang menunjukkan jumlah nodul tumor dalam kelompok. Pada kelompok perlakuan dosis ETK 0,8mg/g BB/hari menunjukkan jumlah nodul tumor paling banyak, dan dosis ETK 1,2 mg/g BB/hari menunjukkan multiplasitas terendah (Gambar 3).





Gambar 3. Multiplisitas tumor pada hewan uji

Terjadinya penghambatan terbentuknya nodul tumor dan multiplisitasnya disebabkan di dalam ekstrak temu kunci terdapat senyawa-senyawa bioaktif yang berpotensi sebagai antikanker. Senyawa fenolik dan flavonoid di dalam rimpang temu kunci menunjukkan aktivitas antioksidan (Jing *et al.*, 2010). Panduratin A dan hidroksipanduratin A dari *B. pandurata* merupakan senyawa yang banyak dilaporkan mempunyai aktivitas sebagai antikanker, selain mempunyai aktivitas sitotoksik dan antiproliferasi pada beberapa jenis sel kanker, juga menunjukkan aktivitas antiinflamasi pada sel RAW 264.7 melalui penghambatan pelepasan NO, PGE-2, dan TNF- α . Kedua senyawa tersebut juga dilaporkan dapat menghambat aktivitas COX-2 (Tewtrakul *et al.*, 2009).

Radiasi kronis dari sinar UV dapat menyebabkan kerusakan jaringan ikat dan matriks ekstra seluler pada kulit sehingga mengurangi sintesis kolagen dan berakibat terjadinya *photo aging* (Fisher, *et al.*, 1997). Penelitian Shim *et al.* (2008) pada sel fibroblast kulit manusia yang diinduksi UV, panduratin A dapat menurunkan aktivitas *matrix metalloproteinase* dengan cara menghambat aktivasi Activator Protein-1 (AP-1) dan lintasan MAPKs sehingga dapat meningkatkan sintesis kolagen. Penelitian pada sel fibroblast tersebut juga menunjukkan bahwa aktivitas panduratin A lebih kuat daripada *Epigallocatechin-3-O-Gallate* (EGCG) yang digunakan sebagai kontrol dan sudah dikenal sebagai agen *anti aging* alami (Shim *et al.*, 2008).

KESIMPULAN

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa ekstrak etanolik temu kunci mempunyai aktivitas kemoprevensi pada karsinogenesis kulit mencit Balb/C yang diinduksi radiasi ultra violet. Ekstrak temu kunci pada dosis 1,2 mg/g BB/hari mampu menghambat munculnya tumor serta menurunkan insidensi dan multiplisitasnya.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih kepada Balitbangkes Kementerian Kesehatan RI yang mendanai penelitian ini melalui Program RISBIN IPTEKDOK 2012.

DAFTAR PUSTAKA

- Beliveau, R. and Gingras, D. (2007). Role of Nutrition in Preventing Cancer. *Can. Fam. Physician* 53: 1906- 1911.
- Fisher GJ, Wang ZQ, data SC, Vaarani J, Kang S, and Voorhees JJ. (1997). Pathophysiology of premature skin aging induced by ultraviolet light. *N. Engl.J. Med.* 337: 1419-1428.
- Hasnah, M.S., Shajarahtunnur, J., Neelavany, M. (1995). *Chemical constituents of Boesenbergia species. Chemical prospecting in The Malaysian forest.* In Ghazally I, Murtedza M, Laily D (eds), Pelanduk Pub. Kuching, Malaysia.
- Jing, L.J., Mohamed, M., Rahmat, A. and Bakar, M.F.A. (2010). Phytochemicals, antioxidant properties and anticancer investigations of the different parts of several gingers species (*Boesenbergia rotunda*, *Boesenbergia pulchella* var. *attenuata* and *Boesenbergia armeniaca*). *J. Med. Plant. Res.* 4(1): 27-32.
- Katiyar, S., Elmets, C.A. and Katiyar, S.K. (2007). Green tea and skin cancer: Photoimmunology, angiogenesis and DNA repair. *J. Nutr. Biochem.* 18: 287-296.
- Kirana, C., Jones, G.P., Record, I.R., McIntosh, G.H. (2007). Anticancer properties of panduratin A isolated from *Boesenbergia pandurata* (Zingiberaceae). *J. Nat. Med.* 61:131-137.



- Lee, B., Lee, S.Y., Lee, H.J., Sim, G., Kim, J., Cho, Y., Lee, D., Pyo, H., Choe, T., Moon, D., Yun, Y.P. and Hong, J.T. (2007). Anti-oxidative and Photo-protective Effects of Coumarins Isolated from *Fraxinus chinensis*. *Arc. Phar. Res.* 30(10): 1293-1301.
- Morikawa, T., Funakoshi, K., Ninomiya, K., Yasuda, D., Miyagawa, K., Matsuda, H., and Yoshikawa, M., (2008). Structure of New Prenylchalcones and Prenylflavanones with TNF- α and Aminopeptidase N Inhibitory Activities from *Boesenbergia rotunda*. *Chem.Pharm.Bull.* 56 (7): 956- 962.
- Purwandani Y and S. Widyarini. (2009). Study of skin premature aging induced by ultraviolet B light irradiation in Balb/C mouse model. *Media Kedokteran Hewan* 25(2): 96-103/
- Ravanat, J.L., Douki, T., and Cadet, J. (2002). Direct and indirect effects of UV radiation on DNA and its components. *J. Photoche. Photobiol.* 63: 88–102.
- Shim, J., Kwon, Y., Han, Y., and Hwang, J. (2008). Inhibitory Effect of Panduratin A on UV-induced Activation of Mitogen-Activated Protein Kinases (MAPKS) in Dermal Fibroblast Cell. *Plant. Med.* 74 (12): 1446-1450.
- Shindo, K., Kato, M., Kinoshita, A., Kobayasi, A., and Koike, Y. (2006). Analysis of antioxidant activities contained in the *Boesenbergia pandurata* Schult. Rhizome. *Biosci. Biotech. Biochem.* 70 (9): 2281 -2284.
- Soehartati. 2011. *Sixth Biggest Cancer Causes of Death in Indonesia*. Department of Radiology Faculty of Medicine University Physicians RSCM. Jakarta. (online). www.wyomingScholar.com. 26/04/2011.
- Soehnge, H., Ouhitit, A., and Ananthaswamy, H.N. (1997). Mechanisms of induction of skin cancer by UV radiation. *Frontier in Biosci.* 2: 538-551.
- Surh, Y. (2003). Cancer Chemoprevention with Dietary Phytochemicals. *Nature Rev.* 3: 768 – 780.
- Surh, Y. and Na, H. (2008). NF- κ B and Nrf2 as prime molecular targets for chemoprevention and cytoprotection with anti-inflammatory and antioxidant phytochemicals. *Genes Nutr.* 2:313–317
- Tewtrakul S., Subhadhirasakul, S., Karalai, C., Ponglimanont, C., and Cheenpracha, S. (2009). Anti-inflammatory effects of compounds from *Kaempferia parviflora* and *Boesenbergia pandurata*. *Food Chem.* 115: 534–538.
- Timares, T., Katiyar, S., and Elmets, C.A. (2008). DNA Damage, Apoptosis and Langerhans cells-Activators of UV Induced Immune Tolerance. *Photochem. Photobiol.* 84 (2): 422–436.
- Tuchinda, P., Reutrakul, V., Claeson, P., Pongprayoon, U., Sematong, T., Santisuk, T., and Taylor, W.C. (2002). Anti-inflammatory cyclohexenyl chalcone derivatives in *Boesenbergia pandurata*. *Phytochem.* 59: 169–173.
- Walaszek, Z., Hanausek, M., and Slaga, T.J. (2004). Mechanisms of Chemoprevention. *Chest* .125:128S-133S.
- Wright, T.I., Spencer, J.M., and Flowers, F.P. (2006). Chemoprevention of non-melanoma skin cancer. *J. Am. Acad. Dermatol.* 942-946.
- Yun J., Kwon, H., Hwang, J. (2003). In vitro anti-inflammatory activity of panduratin A isolated from *Kaempferia pandurata* in RAW 264.7 cells. *Plant. Med.* 69: 1102–1108.
- Yun J., Kweon, M., Kwon, H., Hwang, J., and Mukhtar, H. (2006). Induction of apoptosis and cell cycle arrest by a chalcone panduratin A isolated from *Kaempferia pandurata* in androgen-independent human prostate cancer cells PC3 and DU145. *Carcinogenesis* 27 (7):1454–1464.

DISKUSI

Penanya: Dede Nuraida (Universitas PGRI Ronggolawe Tuban)

Dalam penelitian disebutkan bahwa ekstrak temu kunci tidak larut dalam air melainkan larut dalam metanol, dalam pengaplikasiannya seperti jamu, jamu yang terbuat dari temu kunci selalu diekstrak hanya dengan menggunakan air, Apakah zat aktifnya masih dapat berfungsi atau memiliki efek yang sama bila diekstrak hanya dengan menggunakan air?

Jawab:

Pemakalah mengekstraksi dengan etanol untuk mendekati dari zat aktif yang memang berpotensi sebagai anti kanker. Bila diekstrak dengan air mungkin saja zat aktifnya dapat terlarut tetapi keefektifannya untuk mencegah kanker, anti inflamansi dan anti oksidan akan berbeda bila tidak menggunakan etanol.

Saran moderator (Yudi Rinanto – Pendidikan Biologi FKIP UNS)

Kalau targetnya zat aktif apakah tidak sebaiknya juga dilakukan fraksinasi menggunakan pelarut-pelarut dengan tingkat kepolaran yang berbeda-beda (polar, semi polar dan non polar). Sehingga dapat dibandingkan fraksi yang paling poten, supaya dapat digunakan sebagai rujukan dalam membuat senyawa sintetisnya pada penelitian selanjutnya.

