

**UJI AKTIVITAS SITOTOKSIK EKSTRAK ETANOL RIMPANG TEMU  
PUTIH (*Curcuma zedoaria*) DAN PENGARUHNYA TERHADAP  
JUMLAH PROTEIN 53 PADA KULTUR SEL T47D**



**Oleh:**

**Ana Maria Ulfa  
21154487A**

Kepada  
**FAKULTAS FARMASI  
UNIVERSITAS SETIA BUDI  
SURAKARTA  
2019**

**UJI AKTIVITAS SITOTOKSIK EKSTRAK ETANOL RIMPANG TEMU  
PUTIH (*Curcuma zedoaria*) DAN PENGARUHNYA TERHADAP  
JUMLAH PROTEIN 53 PADA KULTUR SEL T47D**

*SKRIPSI*

*Diajukan untuk memenuhi salah satu syarat mencapai  
Derajat sarjana Farmasi (S.Farm)  
Program Studi Ilmu Farmasi pada Fakultas Farmasi  
Universitas Setia Budi*

**Oleh:**

**Ana Maria Ulfa  
21154487A**

Kepada  
**FAKULTAS FARMASI  
UNIVERSITAS SETIA BUDI  
SURAKARTA  
2019**

**PENGESAHAN SKRIPSI**  
berjudul

**UJI AKTIVITAS SITOTOKSIK EKSTRAK ETANOL RIMPANG TEMU  
PUTIH (*Curcuma zedoaria*) DAN PENGARUHNYA TERHADAP  
JUMLAH PROTEIN 53 PADA KULTUR SEL T47D**

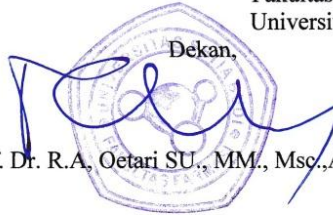
Oleh:

Ana Maria Ulfa  
21154487A

Dipertahankan di hadapan Panitia Penguji Skripsi  
Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi  
Pada tanggal : 26 juni 2019


Mengetahui  
Fakultas farmasi  
Universitas Setia Budi

Dekan.




Prof. Dr. R.A. Oetari SU., MM., Msc., Apt

Pembimbing Utama



Dr. Wiwin Herdwiani, M.Sc, Apt.

Pembimbing Pendamping



Fransiska Leviana, M.Sc., Apt

Apt Penguji :

1. Dr. Ana Indrayati, M.Si.,
2. Dr. Gunawan Pamuji W, S.Si., M.Si., Apt.
3. Vivin Nopiyanti, S. Farm., M.Sc., Apt.
4. Dr. Wiwin Herdwiani, M.Sc, Apt



## HALAMAN PERSEMBAHAN

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

Saling berlakulah jujur dalam ilmu dan jangan saling merahasiakannya. Sesungguhnya berkhianat dalam ilmu pengetahuan lebih berat hukumannya dari pada berkhianat dalam harta.” (Abu Nu’ai)

Barangsiapa mengajarkan ilmu, maka baginya pahala seperti orang yang mengamalkan ilmu nya dan tidak akan mengurangi pahala orang yang melakukan amal tersebut.” [Hasan : Diriwayatkan oleh Imam Ibnu Majah]

Dengan mengucap rasa syukur skripsi ini saya persembahkan kepada :

1. Allah SWT yang telah melimpahkan rahmad taufik serta hidayahnya sehingga penelitian ini bisa selesai sampai sekarang ini.
2. Kedua Orangtua yang selalu mendukung dan mendoakan setiap waktu
3. Ibu Wiwin dan Ibu Fransiska yang telah membantu dalam penelitian ini
4. Teman teman sealmamater saya

## **PERNYATAAN**

Dengan ini saya menyatakan bahwa skripsi ini adalah hasil pekerjaan saya sendiri dan tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu perguruan tinggi dan sepanjang pengetahuan saya tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka

Apabila skripsi ini merupakan jiplakan dari penelitian/karyailmiah/skripsi orang lain, maka saya siap menerima sanksi, baik secara akademis maupun hukum.

Surakarta, Juni 2019

Tanda tangan



Ana Maria Ulfa

## KATA PENGANTAR

Alhamdulillah puji syukur penulis atas kehadiran Allah yang telah memberikan rahmat dan hidayahnya sehingga penulis sapat menyelesaikan skripsi ini untuk memenuhi persyaratan mencapai Sarjana Farmasi (S. Farm) dari Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi, Surakarta. Skripsi ini berjudul “UJI AKTIVITAS SITOTOKSIK EKSTRAK ETANOL RIMPANG TEMU PUTIH (*Curcuma zedoaria*) DAN PENGARUHNYA TERHADAP JUMLAH PROTEIN 53 PADA KULTUR SEL T47D, dengan harapan dapat memberikan kemajuan terhadap dunia pendidikan khususnya dibidang farmasi.

Skripsi ini tidak lepas dari dukungan dan bantuan dari beberapa pihak baik material maupun spiritual. Pada kesempatan ini dengan segala kerendahan hati penulis mengucapkan banyak terima kasih kepada:

1. Dr. Ir. Djoni Tarigan., MBA. selaku Rektor Universitas Setia Budi, Surakarta.
2. Prof. Dr. R.A Oetari, S.U., M.M., M.Sc., Apt. selaku Dekan Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi, Surakarta.
3. Dwi Ningsih., M.Farm., Apt. selaku Kepala Program Studi S1 Farmasi Universitas Setia Budi, Surakarta.
4. Opstaria Saptarini, M.Si., Apt selaku pembimbing akademik atas segala bimbingan dan pengarahannya.
5. Dr Wiwin Herdwiani, M.Sc., Apt selaku pembimbing utama yang telah tersedia mendampingi, membimbing, memberi semangat serta bertukar pikiran sehingga skripsi ini dapat selesai.
6. Fransiska Leviana, M.Sc., Apt selaku pembimbing pendamping yang telah membimbing, memberikan masukan dan memberikan motivasi sehingga skripsi ini selesai.
7. Penguji skripsi yang telah memberikan kritik dan saran sehingga skripsi ini selesai.
8. Prof. dr. Supargiyono., DTM&H., SU., PhD., SpPark selaku supervisor yang telah membimbing selama penelitian di Universitas Gadjah Mada

9. Mba Atin selaku teknisi yang membantu praktikum menyiapkan peralatan dan bahan yang diperlukan.
10. Kedua Orang tua yaitu Bapak dan Ibu terimakasih atas doa dan kasih sayangnya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini.
11. Teman seperjuangan Padusitrada, Aqila, Delva, Irtama, Mas Anggi, mba Wahyu, Nandri, Devi, Reni yang memberi semangat dan doa
12. Teman teman kos putri "PALEM LILEK" Ninik, Debi, Kiki, Erni, Imas, Rois, Tiara, Kikik, Leli yang menghibur dan memberi dukungan.
13. Teman teori 2 dan 6 yang telah memberikan semangat sehingga skripsi ini bisa selesai.
14. Teman teman S1 farmasi angkatan 2015 yang tidak bisa disebutkan satu persatu

Penulis menyadari bahwa skripsi ini masih sangat jauh dari kesempurnaan oleh karena itu, penulis mengharapkan adanya kritik serta saran yang diberikan dalam upaya penyempurnaan penulisan skripsi skripsi ini. Penulis berharap semoga apa yang telah penulis persembahkan dalam karya ini dapat bermanfaat khususnya bagi penulis dan bagi para pembaca.

Surakarta, Juni 2019

Penulis

## DAFTAR ISI

Halaman

HALAMAN JUDUL.....	i
PENGESAHAN SKRIPSI .....	ii
HALAMAN PERSEMBAHAN.....	iii
PERNYATAAN .....	iv
KATA PENGANTAR.....	v
DAFTAR ISI .....	vii
DAFTAR GAMBAR.....	xi
DAFTAR TABEL .....	xiii
DAFTAR LAMPIRAN .....	xiv
DAFTAR SINGKATAN.....	xvi
INTISARI .....	xvii
ABSTRACT .....	xviii
BAB I PENDAHULUAN.....	19
A. Latar Belakang.....	19
B. Rumusan Masalah .....	21
C. Tujuan Penelitian.....	22
D. Manfaat Peneliti.....	22
BAB II TINJAUAN PUSTAKA .....	23
A. Klasifikasi Tumbuhan Rimpang Temu Putih.....	23
1. Sistematika tumbuhan temu putih .....	23
2. Morfologi tumbuhan temu putih.....	23
3. Kandungan kimia dan manfaat .....	24
3.1 Kurkumin. ....	24
Kurkumin .....	24
3.2 Fenolik. ....	25
3.3 Minyak atsiri. ....	25
3.4 Polisakarida.....	25
4. Kegunaan Tanaman.....	26
B. Simplisia .....	26
1. Pengertian .....	26
1.1. Simplisia nabati.....	27



1.2.	Simplisia hewani.....	27
1.3.	Simplisia pelikan.....	27
2.	Habitat dan penyebaran.....	27
3.	Pengumpulan.....	27
4.	Perajangan.....	27
5.	Pengeringan.....	28
6.	Penyimpanan.....	28
C.	Metode Penyarian.....	28
1.	Ekstraksi.....	28
2.	Remaserasi.....	29
3.	Pelarut.....	29
D.	Kanker.....	30
1.	Definisi.....	30
2.	Penyebab kanker.....	30
2.1	Senyawa kimia (zat karsinogen).....	30
2.2	Radiasi.....	31
2.3	Virus.....	31
2.5	Kelainan genetik.....	32
3.	Fase utama pertumbuhan kanker.....	32
3.1	Fase inisiasi.....	32
3.2	Fase promosi.....	33
3.3	Fase progresi.....	33
4.	Ciri sel kanker.....	34
4.1	Sel kanker mampu menyukupi sinyal pertumbuhan sendiri.....	34
4.2	Sel kanker tidak sensitif terhadap sinyal antiproliferatif.....	34
4.3	Sel kanker memiliki kemampuan untuk menghindari sinyal kematian sel.....	34
4.4	Sel kanker kemampuan replikasi yang tidak terbatas ( <i>immortal</i> ).....	35
4.5	Sel kanker memiliki kemampuan membentuk pembuluh darah baru (angiogenesis).....	35
4.6	Sel kanker memiliki kemampuan melakukan invasi dan metastasis.....	35
4.7	Sel kanker memiliki kemampuan untuk mengatur proses metabolisme energi.....	36
4.8	Sel kanker memiliki kemampuan untuk menghindari sistem imun.....	36
4.9	Inflamasi memicu munculnya kanker.....	36
4.10	Ketidak stabilan genom dan mutasi.....	36
5.	Siklus sel kanker.....	37
5.1	Fase pasca mitosis (G1).....	37
5.2	Fase sintesis DNA (S).....	37
5.3	Fase pra mitosis (G2).....	37
5.4	Fase mitosis (fase M).....	37
E.	Kanker Payudara.....	38
1.	Defisini.....	38
2.	Klasifikasi kanker payudara.....	39

2.1	Non - Invasif Karsinoma.....	39
2.2	Invasif Karsinoma.....	39
2.3	Paget's <i>Disease</i> .....	40
3.	Tanda dan gejala.....	40
4.	Faktor Risiko.....	41
4.1	Faktor risiko yang tidak dapat diubah.....	41
4.2	Faktor risiko yang dapat diubah.....	42
5.	Pengobatan.....	44
5.1	Operasi (Pembedahan).....	44
5.2	Radioterapi.....	44
5.3	Kemoterapi.....	44
5.4	Terapi Hormon.....	44
F.	Sel T47D.....	45
G.	Sel Vero.....	46
H.	Metode Aktivitas Antikanker.....	46
1.	Metode sitotoksik MTT assay.....	46
2.	Metode imunositokimia.....	46
I.	Antibodi p53.....	47
J.	Doxorubicin.....	48
K.	Media DMEM.....	50
L.	Landasan Teori.....	52
M.	Hipotesis.....	53
BAB III METODE PENELITIAN.....		54
A.	Populasi dan Sampel.....	54
B.	Variabel Penelitian.....	54
1.	Identifikasi variabel utama.....	54
2.	Klasifikasi variabel utama.....	54
3.	Definisi Operasional variabel utama.....	55
C.	Alat dan Bahan.....	56
1.	Alat.....	56
2.	Bahan.....	56
D.	Jalannya Penelitian.....	56
1.	Determinasi tanaman.....	56
2.	Persiapan bahan.....	56
3.	Penetapan kadar air serbuk rimpang temu putih.....	57
4.	Pembuatan ekstrak etanol rimpang temu putih ( <i>Curcuma zedoaria</i> ) .....	57
5.	Uji Residu etanol.....	57
6.	Identifikasi kandungan senyawa kimia serbuk dan ekstrak etanol rimpang temu putih ( <i>Curcuma zedoaria</i> ).....	57
6.1	Flavonoid.....	57
6.2	Saponin.....	58
6.3	Kurkumin.....	58
6.4	Minyak atsiri.....	58
7.	Serilisasi LAF.....	58
8.	Sterilisasi Alat.....	58

9.	Prosedur Kerja .....	58
9.1	Pembuatan media kultur DMEM. ....	58
9.2	Menumbuhkan sel dari tangki nitrogen cair ( <i>Cell Thawing</i> )..	59
9.3	Penggantian media.....	60
9.4	Panen sel.....	60
9.5	Perhitungan sel. ....	60
9.6	Cara perhitungan .....	61
9.7	Sub kultur.....	61
9.8	Preparasi sampel.....	62
9.9	Uji sitotoksik .....	62
9.10	Uji indek selektivitas.....	64
9.11	Imunositokimia. ....	64
E.	Analisa Hasil .....	66
1.	Menghitung nilai IC <sub>50</sub> .....	66
2.	Indeks Selektivitas.....	66
3.	Metode Imunositokimia .....	66
BAB IV HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN .....		70
1.	Determinasi tanaman.....	70
2.	Pengumpulan, pengeringan bahan, dan pembuatan serbuk. ....	70
3.	Pemeriksaan organoleptis serbuk rimpang temu putih. ....	71
4.	Hasil penetapan kandungan lembab pada serbuk rimpang temu putih. ....	71
5.	Hasil penetapan kadar air ekstrak etanol rimpang temu putih. ....	71
6.	Hasil pembuatan ekstrak etanol rimpang temu putih. ....	72
7.	Identifikasi kandungan senyawa pada serbuk dan ekstrak etanol rimpang temu putih. ....	72
8.	Identifikasi kualitatif senyawa dengan metode KLT .....	73
8.1	Senyawa minyak atsiri .....	73
8.2	Senyawa kurkumin .....	74
9.	Uji Residu Etanol .....	76
10.	Uji Sitotoksik .....	76
11.	Indeks selektivitas .....	84
12.	Imunositokimia .....	85
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN .....		90
A.	Kesimpulan.....	90
B.	Saran .....	90
DAFTAR PUSTAKA .....		91
LAMPIRAN .....		98

## DAFTAR GAMBAR

Halaman

1. Tanaman temu putih.....	23
2. Morfologi sel T47D akibat perlakuan EP 60 µg/mL (a) dibandingkan dengan sel tanpa perlakuan/kontrol sel (b). Dilakukan dengan menginkubasi 3×10 <sup>3</sup> sel T47D dengan EP (30-210 µg/mL) selama 48 jam.....	45
3. Struktur kimia doxorubicin.....	49
4. Bilik hitung sel.....	61
5. Skema uji sitotoksik ekstrak etanol rimpang temu putih .....	68
6. Pembuatan ekstrak etanol rimpang temu putih.....	67
7. Metode Imunositokimia .....	69
8. a) Sebelum penotolan, b) Deteksi dengan sinar UV, c) 254 Deteksi dengan sinar UV 366, d) setelah penyemprotan anisaldehyd. Keterangan; E: ekstrak etanol rimpang temu putih, B; baku sinamaldehyd.....	74
9. a) Sebelum penotolan, b) Deteksi dengan sinar UV, c) 254 Deteksi dengan sinar UV 366, d) setelah penyemprotan x. Keterangan; E: ekstrak etanol rimpang temu putih, B; baku sinamaldehyd.....	75
10. Hasil presentase grafik hubungan % Viabilitas kultur sel kanker payudara T47D terhadap konsentrasi ekstrak rimpang temu putih. Nilai IC50 didapatkan dari perhitungan regresi linier konsentrasi dibandingkan dengan % viabilitas sel.....	78
11. Hasil perlakuan ekstrak etanol terhadap sel t47d pengamatan dilakukan pengamatan dibawah mikroskop inverted dengan pembesaran 100x. (a) 500µg/ml (b) kontrol sel.....	79
12. Hasil presentase grafik hubungan % Viabilitas kultur sel kanker payudara T47D terhadap Doxorubicin. Nilai IC50 didapatkan dari perhitungan regresi linier konsentrasi dibandingkan dengan % viabilitas sel .....	80
13. Hasil perlakuan doxorubicin terhadap sel t47d pengamatan dilakukan pengamatan dibawah mikroskop inverted dengan pembesaran 100x. (a) 50µg/ml (b) kontrol sel.....	81

14. Hasil presentase grafik hubungan % Viabilitas kultur sel Vero terhadap ekstrak rimpang temu putih. Nilai IC50 didapatkan dari perhitungan regresi linier konsentrasi dibandingkan dengan % viabilitas sel .	81
15. Hasil perlakuan ekstrak etanol terhadap sel vero pengamatan dilakukan pengamatan dibawah mikroskop inverted dengan pembesaran 100x. (a) 500µg/ml (b) kontrol sel.	82
16. Hasil presentase grafik hubungan % Viabilitas kultur sel Vero terhadap doxorubicin. Nilai IC50 didapatkan dari perhitungan regresi linier konsentrasi dibandingkan dengan % viabilitas sel.	83
17. Hasil perlakuan ekstrak etanol terhadap sel vero pengamatan dilakukan pengamatan dibawah mikroskop inverted dengan pembesaran 100x. (a) 500µg/ml (b) kontrol sel.	84
18. Efek perlakuan ekstrak etanol rimpang temu putih terhadap jumlah protein 53 pada kultur sel T47D.	86
19. Kemungkinan ekstrak rimpang temu putih menghambat proliferasi sel T47D.	87

## DAFTAR TABEL

	Halaman
1. Hasil presentase berat kering terhadap berat basah rimpang temu putih. ....	70
2. Hasil pemeriksaan organoleptis serbuk rimpang temu putih .....	71
3. Hasil penetapan kandungan lembab serbuk rimpang temu putih .....	71
4. Hasil penetapan kadar air ekstrak etanol rimpang temu putih.....	72
5. Hasil pembuatan ekstrak etanol rimpang temu putih.....	72
6. Hasil identifikasi kandungan senyawa pada serbuk dan ekstrak etanol rimpang temu putih. ....	73
7. Hasil identifikasi ekstrak rimpang temu putih secara KLT .....	74
8. Hasil identifikasi ekstrak rimpang temu putih secara KLT .....	75
9. Hasil selektivty index Ekstrak rimpang temu putih dan Doxorubicin .....	84
10. Presentase jumlah protein 53 setelah perlakuan ekstrak etanol rimpang temu putih.....	86

## DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
1. Hasil determinasi ekstrak etanol rimpang temu putih.....	99
2. Etical clearent .....	100
3. Hasil simplisia dan serbuk, ekstrak etanol, .....	101
4. Alat yang digunakan waktu praktikum .....	102
5. Penetapan Kadar air serbuk rimpang temu putih.....	107
6. Penetapan Susut pengeringan serbuk rimpang temu putih.....	108
7. Uji bebas etanol .....	109
8. Identifikasi senyawa yang terkandung dalam rimpang temu putih .....	109
9. Pembuatan media DMEM .....	111
10. Pembuatan larutan dapar phosfat PBS .....	111
11. Pembuatan larutan MTT assay .....	111
12. Pembuatan larutan <i>stopper</i> .....	112
13. Perhitungan rimpang kering terhadap rimpang basah.....	112
14. Perhitungan rendemen hasil ekstrak rimpang temu putih .....	112
15. Perhitungan Panen sel .....	113
16. Perhitungan pembuatan larutan untuk uji sitotoksik.....	114
17. Ilustrasi Pembuatan seri konsentrasi .....	115
18. Perhitungan $IC_{50}$ ekstrak rimpang temu putih.....	117
19. Perhitungan pembuatan larutan untuk uji Imunositokimia .....	121
20. Ilustrasi pembuatan seri konsentrasi .....	122
21. Langkah pengujian Imunositokimia.....	123
22. Perhitungan jumlah protein yang mengekspresikan antibodi P53 .....	124

23. Hasil perhitungan jumlah protein 53.....	126
--	-----



## DAFTAR SINGKATAN

WHO	: World Health Organization
IARC	: International Agency For Research On Cancer
IC <sub>50</sub>	: Inhibitor Consentration 50
P53	: Protein 53 Kilo Dalton
OVCAR	: Human Ovarian Cancer Cell
TNF@	: Tumor Necrosis Factor Alpha
HER 2	: Human Epidermal Growth Factor Receptor 2
Sel nk	: Natural Killer Cell
NCI	: National Cancer Institute
HIV	: Human Immunodeficiency Virus
EBV	: Virus Epstein Bar
RNA	: Ribonucleic Acid
DNA	: Deoxiribosa Nucleic Acid
VEGF	: Vascular Endothel Growt Factor
FGF	: Fibroblast Growt Factor
CAM	: Cell Adhesion Molecules
CCRC	: Cancer Chemoprefention Reseact Cancer
MTT	: Dimetiltiazol Difeniltetrazolium Bromid
ER	: Estrogen
5FU	: Fluorouracil
ROS	: Reactive Oxygen Species
DMEM	: Dulbecco's Modified Eagle's Medium
PBS	: Phosfat Bovin Serum
MK	: Media Kultur
DMSO	: Dimetil Sulfoksida
Biotin	: Biotinylated Universal Secondary Antibody
Bloking solution	: Hidrogen Peroksida Solution

## INTISARI

**ULFA AM., 2019, UJI AKTIVITAS SITOTOKSIK EKSTRAK ETANOL RIMPANG TEMU PUTIH (*Curcuma zedoaria*) DAN PENGARUHNYA TERHADAP JUMLAH PROTEIN 53 PADA KULTUR SEL T47D, SKRIPSI, FAKULTAS FARMASI, UNIVERSITAS SETIA BUDI, SURAKARTA.**

Kanker payudara menduduki peringkat kedua setelah penyakit kardiovaskular dinegara berkembang. Salah satu tanaman yang berpotensi untuk dikembangkan sebagai obat antikanker adalah temu putih (*Curcuma zedoaria*). Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas sitotoksik, indeks selektifitas dan jumlah protein 53 pada kultur sel T47D.

Penelitian ini meliputi ekstraksi rimpang temu putih menggunakan metode remaserasi dengan pelarut etanol 96%. Uji aktivitas sitotoksik ekstrak etanolik temu putih dilakukan dengan metode MTT [ 3-(4,5-dimetiltiazol – 2 il) 2 ,5 difeniltetrazolium bromid) dengan seri konsentrasi 500;250;125 ;62.5;31.5( $\mu\text{g/ml}$ ) pada sel T47D dan dihitung nilai *inhibitor concentration* 50  $\text{IC}_{50}$  dengan menggunakan regresi linier. Selektifitas sitotoksik diketahui dengan persamaan indeks selektifitas yaitu perbandingan  $\text{IC}_{50}$  sel vero berbanding  $\text{IC}_{50}$  sel T47D. Jumlah protein 53 diketahui dengan pengecatan dengan menggunakan metode imunositokimia dengan metode tidak langsung menggunakan antibodi primer dan sekunder.

Hasil uji aktivitas sitotoksik ekstrak etanol rimpang temu putih dengan menggunakan metode MTT menunjukkan aktivitas sitotoksik moderat pada kultur sel T47D dengan nilai  $\text{IC}_{50}$  sebesar 107  $\mu\text{g/ml}$ . Indeks selektifitas didapatkan nilai sebesar 4,21. Jumlah protein 53 menggunakan metode imunositokimia dengan metode tidak langsung banyak sel yang berwarna coklat.

---

Kata kunci : temu putih, sel T47D, sitotoksik , indeks selektifitas, p53.

## ABSTRACT

**ULFA AM., 2019, CYTOTOXIC ACTIVITY TEST OF RIZOMAE ETHANOL EXTRACT OF WHITE TUMERIC (*Curcuma zedoaria*) AND ITS EFFECT ON THE NUMBER OF 53 PROTEIN IN CELL T47D CULTURE, THESIS, FACULTY PHARMACY, SETIA BUDI UNIVERSITY, SURAKARTA.**

Breast cancer ranks second after cardiovascular disease in developing countries. One plant that has the potential to be developed as an anticancer drug is white tumeric (*Curcuma zedoaria*). This study aimed to determine cytotoxic activity, selectivity index and protein number 53 in T47D cell culture.

This research includes extraction of white tumeric using remaseration method with ethanol 96% solvent cytotoxic activity test of white methanolic extract was carried out by the MTT method [3- (4,5-dimethylthiazol-2 il) 2, 5 diphenyltetrazolium bromide) with series concentration (500 µg/ml;250 µg / ml;125 µg/ml;62.5 µg/ml;31.5 µg/ml) in T47D cells and calculated the value of concentration 50 IC<sub>50</sub> inhibitors using linear regression. Cytotoxic selectivity is known by the selectivity index equation, namely the ratio of IC<sub>50</sub> vero cells versus IC<sub>50</sub> cells T47D. The amount of protein 53 is known by painting using an immunocytochemical method with an indirect method using primary and secondary antibodies.

Test results of cytotoxic activity of ethanol extract of white rhizome using MTT method showed moderate cytotoxic activity in T47D cell culture with an IC<sub>50</sub> value of 107 µg / ml. The selectivity index is 4,21. The amount of protein 53 uses an immunocytochemical method with an indirect method many brown cell cells express mutated 53 proteins.

---

Keywords: white tumeric, T47D cell, selectivity index, p53.

## **BAB I**

### **PENDAHULUAN**

#### **A. Latar Belakang**

Penyakit kanker merupakan salah satu penyebab kematian utama diseluruh dunia. Kanker adalah sel yang tidak normal dari jaringan tubuh yang berubah menjadi ganas. Sel - sel tersebut dapat tumbuh lebih lanjut serta menyebar ke bagian tubuh lainnya serta menyebabkan kematian. Sel tubuh yang mengalami mutasi (perubahan) dan mulai tumbuh dan membelah lebih cepat dan tidak terkendali seperti sel normal. Sel kanker tidak mati setelah usianya cukup melainkan cepat dan tidak terkendali seperti sel normal. Sel kanker tidak mati setelah usianya cukup melainkan tumbuh terus dan bersifat infasif sehingga sel normal tumbuh dapat terdesak atau mati (Kemenkes RI 2016).

Berdasarkan data WHO tahun 2013, insiden kanker meningkat dari 12,7 juta kasus tahun 2008 menjadi 14,1 juta kasus tahun 2012, dengan jumlah kematian meningkat dari 7,6 juta orang tahun 2008 menjadi 8,2 juta pada tahun 2012. Kanker menjadi penyebab kematian nomor 2 di dunia sebesar 13% setelah penyakit kardiovaskular (Kemenkes RI 2014). Berdasarkan estimasi *Globocan*, *International Agency for Research on Cancer* (IARC) tahun 2012, kanker payudara adalah kanker dengan persentase kasus baru tertinggi (43,3%) dan persentase kematian tertinggi (12,9%) pada perempuan di dunia. Berdasarkan data Riset Kesehatan Dasar tahun 2013, prevalensi kanker payudara di Indonesia mencapai 0,5 per 1000 perempuan (Kemenkes RI, 2015).

Radioterapi, kemoterapi, dan operasi merupakan metode yang biasa dilakukan pada pengobatan kanker payudara. Kebanyakan pada operasi tidak dapat mengangkat tumor seutuhnya. Radioterapi dan kemoterapi dapat merusak jaringan, sehingga jaringan yang sehat tidak dapat menoleransi radiasi dan dosis obat harus dijaga pada level yang rendah (Vali *et al.* 2015). Beragam efek samping yang timbul akibat pengobatan secara medis tersebut, mendorong dilakukannya penelitian untuk mencari obat-obat dari bahan alam. Salah satu tanaman yang berpotensi untuk dikembangkan sebagai obat antikanker adalah

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

Penelitian sitotoksik tentang aktivitas farmakologi dari tanaman temu putih. Ekstrak etanol rimpang temu putih menunjukkan aktivitas menghambat sel-sel OVCAR-3, yaitu *sel line* kanker ovarium manusia (Syu *et al* 1998). Kurkumin telah diteliti mampu menekan proliferasi sel kanker melalui mekanisme menginduksi apoptosis (Surh 1999), menghambat enzim prostaglandin sintetase, biosintesis leukotrien, dan memblok aksi enzim arakidonat 5-lipooksigenase (Kiuchi 1992). Minyak atsirinya yang terdiri dari monoterpen dan seskuiterpen menunjukkan efek antiinflamasi pada udem kaki tikus betina galur wistar yang diinduksi karagenan (Soewarni 1997), juga mampu menghambat enzim siklooksigenase (Yoshioka *et al* 1998), dan mempunyai aktivitas hepatoprotektor (*cit* Windono *dkk* 2002; Matsuda *et al.* 1998).

Kandungan dari tanaman temu putih salah satunya adalah minyak atsiri yang mempunyai efek antiinflamasi dan antioksidan (Yoshika *et al* 1998). Penelitian dengan tanaman ekstrak temu putih menggunakan pelarut zam zam berpotensi antikanker dengan nilai  $IC_{50}$  28,24  $\mu\text{g/ml}$ . Sedangkan temu putih dalam pelarut etanol memiliki nilai  $IC_{50}$  13,71  $\mu\text{g/ml}$  yang diinkubasi masing masing 24 jam. Temu putih dengan kandungan flavonoid memiliki efek sitotoksik kandungan yang lain yaitu senyawa fenolik memiliki efek antioksidan (Hudaya, Isna 2015)

Aktivitas antiproliferasi dari ekstrak temu putih pada konsentrasi tinggi 10% bersifat efektif menghambat pertumbuhan sel Hela dan menghasilkan LC50 pada konsentrasi ekstrak temu putih 60,3  $\mu\text{g/ml}$ . Pemberian ekstrak etanol

konsentrasi tinggi mengubah bentuk sel HeLa dengan ukuran makin membesar, dinding sel pecah, dan terjadi fragmentasi sel (Syaefudin, dkk 2014).

Ekstrak etanol rimpang temu putih mampu menghambat proses karsinogenesis pada mencit betina yang diinduksi benzo[a]piren secara signifikan pada dosis 750 mg/kgBB  $p < 0,05$  (Muryati 2004). Ekstrak kombinasi ekstrak temu putih dan bawang putih dengan nilai sebesar 449,04 ppm tergolong ekstrak yang bersifat toksik terhadap sel limfoma (Silma, Istiqari 2015). Ekstrak temu putih memiliki aktivitas sitotoksik yang paling kuat terhadap kultur sel HeLa dibandingkan dengan buah merah dan mahkota dewa. Nilai  $LC_{50}$  dari ekstrak temu putih 58,9  $\mu\text{g/ml}$ , buah merah 421  $\mu\text{g/ml}$  dan mahkota dewa 835  $\mu\text{g/ml}$ , untuk waktu inkubasi 24 jam, sedangkan untuk waktu inkubasi 48 jam, nilai  $LC_{50}$  temu putih 29,19  $\mu\text{g/ml}$ , buah merah 276,79  $\mu\text{g/ml}$  dan mahkota dewa 415,9  $\mu\text{g/ml}$  (Radji, dkk 2010). Oleh karena itu penulis ingin melakukan penelitian efek sitotoksik ekstrak etanol rimpang *Curcuma zedoaria* terhadap sel kanker payudara T47D sebagai model sel kanker payudara, untuk mengetahui indeks selektivitas ekstrak temu putih sel Vero dengan sel kanker T47D serta untuk mengetahui aktifitas ekstrak etanol rimpang *curcuma zedoaria* terhadap jumlah protein 53 pada kultur sel T47D.

## B. Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang peneliti merumuskan permasalahan sebagai berikut:

Pertama, apakah ekstrak etanol rimpang *Curcuma zedoaria* mempunyai aktivitas sitotoksik terhadap sel kanker payudara T47D ?

Kedua, berapakah nilai indeks selektivitas ekstrak etanol rimpang *Curcuma zedoaria* terhadap sel Vero dibandingkan dengan sel kanker payudara T47D

Ketiga, apakah ekstrak etanol *Curcuma zedoaria* mempengaruhi jumlah protein 53 pada kultur sel T47D?

### **C. Tujuan Penelitian**

Berdasarkan rumusan masalah penelitian ini bertujuan untuk :

Petama, untuk mengetahui ekstrak etanol rimpang *Curcuma zedoaria* mempunyai aktivitas sitotoksik terhadap sel kanker payudara T47D.

Kedua, untuk mengetahui nilai indeks selektivitas ekstrak etanol rimpang *Curcuma zedoaria* terhadap sel Vero dibandingkan dengan sel kanker payudara T47D

Ketiga, mengetahui aktivitas ekstrak etanol rimpang *Curcuma zedoaria* terhadap jumlah protein 53 pada kultur sel T47D

### **D. Manfaat Penelitian**

Hasil penelitian ini diharapkan :

Pertama, memberikan informasi tentang aktivitas sitotoksik ekstrak etanol rimpang *Curcuma zedoaria* terhadap sel kanker payudara T47D

Kedua , memberikan informasi bahwa ekstrak etanol rimpang *Curcuma zedoaria* mempunyai nilai indeks selektivitas.

Ketiga, mengetahui bahwa ekstrak etanol rimpang *Curcuma zedoaria* mempengaruhi jumlah protein 53 pada kultur sel T47D