

Aktivitas Kemopreventif Kanker dari Ekstrak Etanol Lempuyang Wangi pada Mencit yang Diinduksi DMBA

*I Ketut Adnyana, Irvani Rakhmawati, Alia Tri Afifa

Kelompok Keilmuan Farmakologi-Farmasi Klinik, Sekolah Farmasi, ITB
Jl. Ganesa 10 Bandung 40132

Abstrak

Kanker merupakan penyakit yang ditandai dengan pembelahan sel yang tidak normal, tidak terkendali, dan dapat membentuk massa tumor, bersifat invasif, serta dapat mengalami metastasis. Sampai saat ini belum ada terapi yang dapat memberikan efikasi dan keamanan yang memuaskan. Pada penelitian ini, telah diuji efek khemopreventif dari ekstrak etanol lempuyang wangi (*Zingiber aromaticum*) terhadap mencit yang diinduksi kanker menggunakan DMBA. Pada kelompok yang diberi ekstrak lempuyang wangi, jumlah kanker yang terjadi pada akhir minggu ke-10 adalah sebanyak satu kanker, dan pada kelompok obat pembanding ditemukan 0 kanker, sedangkan pada kelompok kontrol ditemukan 33 kanker. Meskipun masih ditemukan kanker pada kelompok ekstrak uji, persentase kematian yang terjadi pada kelompok tersebut hanya sebesar 20%, lebih kecil dibandingkan dengan kelompok obat pembanding yaitu 60%, dan kelompok kontrol 60%.

Kata kunci : kanker, DMBA, lempuyang wangi, *Zingiber aromaticum*

Abstract

Cancer is a disease which characterized by abnormal cell division, can form a tumor mass, invasive, and experienced metastases. Up until now, there is no satisfactory result from cancer treatments. In this research, the chemopreventive activity of ethanol extract of lempuyang wangi (*Zingiber aromaticum*) has been tested on DMBA-induced cancer mice. Until the end of week 10, there are 1 cancer found in test group, 0 cancer in standard group, and 33 cancers in control group. Although there is still cancer in test group, the extract of lempuyang wangi had the ability to reduce percentage of mortality to 20%, lesser than the mortality on standard group (60%) and in control group (60%).

Keywords: cancer, DMBA, lempuyang wangi, *Zingiber aromaticum*

Pendahuluan

Kanker merupakan penyakit yang disebabkan oleh terjadinya pertumbuhan sel tubuh yang tidak terkendali, dan memiliki kemampuan untuk menyerang jaringan lain dan dapat bermetastasis. Pertumbuhan sel kanker ini dipicu oleh banyak faktor, beberapa contoh pemicu kanker stress, terpapar radiasi, terpapar bahan kimia, pola hidup tidak sehat, obesitas, kebiasaan merokok, dan faktor keturunan.

Metode terapi kanker yang saat ini umum digunakan adalah dengan radiasi, kemoterapi, dan operasi. Biasanya digunakan kombinasi dari metode tersebut untuk mencegah penyebaran ke bagian tubuh lain. Dari metode-metode tersebut, belum ada metode terapi yang memberikan efikasi dan keamanan yang memuaskan. Salah satu contoh adalah adanya efek samping penggunaan kemoterapi yang memberikan rasa nyaman pada penderita, seperti kerontokan rambut, mual, muntah, dan rasa nyeri yang amat sangat. Atas dasar tersebut banyak penelitian antikanker menggunakan bahan alam yang bertujuan untuk mencari obat antikanker yang potensial terus dilakukan.

Lempuyang wangi merupakan salah satu tanaman dari suku *Zingiberaceae* yang sering digunakan sebagai obat tradisional. Rimpang lempuyang wangi mengandung banyak senyawa aktif berkhasiat. Salah satu senyawa berkhasiat yang telah diteliti aktivitasnya adalah zerumbone. Zerumbone adalah senyawa terpenoid yang memiliki aktivitas sebagai antioksidan dan anti inflamasi. Penelitian lainnya (Wahab, *et al.*, 2008) menunjukkan bahwa zerumbone memiliki aktivitas menghambat pertumbuhan sel HeLa (*Human cervical cancer cell line*) pada konsentrasi IC_{50} 11.3 μ M (2.5μ g mL^{-1}).

Melanjutkan penelitian sebelumnya, pada penelitian ini efek khemopreventif dari ekstrak etanol lempuyang wangi diuji pada mencit yang diinduksi kanker dengan DMBA. DMBA (7,12 dimethylbenzen(a)-anthracene) merupakan senyawa kimia yang termasuk ke dalam kelompok hidro-karbon aromatik polisiklik dan heterosiklik yang bersifat karsinogen yang sangat poten. Dosis tunggal yang besar dan dosis ganda dapat menimbulkan kanker kulit, payudara, limfoma, hati, kolon, dan leukemia tanpa memperhatikan rute administrasinya (Qing, *et al.*, 1997).

*Penulis yang dapat dihubungi untuk korespondensi
ketut@fa.itb.ac.id

Percobaan

Bahan

Ekstrak etanol lempuyang wangi (*Zingiber zerumbet* L.) J.E. Smith var. *aromaticum* (Valeton) Theilade), NaCl fisiologis, etanol, 7,12-dimetilbenz[a]antrasen, aquadest, minyak kedelai, formaldehid, asam asetat glacial, asam sulfat, pereaksi Dragendorff, pereaksi Mayer, serbuk Mg, amil alcohol, Na-asetat, larutan FeCl₃, larutan gelatin, NaOH, larutan ammonia 25%, eter, HCl, pereaksi Liebermann-Burchard.

Alat

Pipa kapiler heparin, spektrofourometri, syringe, labu Erlenmeyer, batang pengaduk, sonde oral, pipet tetes, tabung eppendorf, sentrifuga, vortex, alat bedah, pinset, gelas kimia, kertas saring, mortar, stamper, timbangan hewan.

Hewan Uji

Hewan uji yang digunakan adalah mencit betina galur Swiss-Webster yang berumur 5 minggu dengan berat 20-25 gram, diperoleh dari Laboratorium Hewan, Sekolah Farmasi, Institut Teknologi Bandung.

Bahan Uji

Tanaman lempuyang wangi diambil dari kebun percobaan Manoko, Lembang, Bandung dan dideterminasi di Herbarium Bandungense, Sekolah Ilmu Teknologi Hayati, Institut Teknologi Bandung.

Penyiapan Ekstrak Uji

Simplisia rimpang lempuyang wangi diekstraksi dengan cara refluks dengan menggunakan pelarut etanol selama 3 jam dan diulang sebanyak 3 kali. Ekstrak yang didapat dipekatan dengan vakum putar. Rendemen ekstrak kering dihitung terhadap bobot simplisia kering.

Karakterisasi dan Penapisan Fitokimia Ekstrak Uji

Ekstrak etanol lempuyang wangi kemudian dikarakterisasi. Karakterisasi ekstrak yang dilakukan adalah penetapan kadar air, kadar abu, kadar sari larut air, dan kadar sari larut etanol. Selain itu, dilakukan juga penapisan fitokimia terhadap ekstrak, meliputi pemeriksaan golongan alkaloid, flavonoid, saponin, tanin, kuinon, steroid/ triterpenoid.

Penyiapan Bahan Uji

Ekstrak etanol lempuyang wangi dibuat dalam larutan Tween 80 3%. Sedangkan larutan obat pembanding Metotreksat (MTX) dibuat dalam aquadest. Untuk zat penginduksi, DMBA dilarutkan dalam minyak kedelai.

Pengujian Aktivitas Antikanker

Mencit dibagi menjadi 4 kelompok. Satu kelompok merupakan kelompok normal yang tidak diinduksi DMBA dan tiga kelompok lainnya diinduksi dengan DMBA per oral. Tiga kelompok yang diinduksi DMBA tersebut adalah kelompok kontrol yang hanya diberi larutan 3% Tween 80 dalam aquadest, kelompok kedua merupakan kelompok yang diberikan obat pembanding Metotreksat (MTX) dengan dosis 9 mg/kg bb, dan kelompok terakhir adalah kelompok yang diberi ekstrak lempuyang wangi dengan dosis 130 mg/kg bb. Larutan Tween 80, MTX, dan ekstrak diberikan per oral.

Induksi dengan DMBA dilakukan selama 6 minggu dengan pemberian DMBA sebanyak satu kali seminggu selama 3 minggu pertama, dan dilanjutkan dengan pemberian sebanyak dua kali seminggu pada 3 minggu berikutnya. Pemberian ekstrak uji dilakukan setiap hari (5 hari dalam seminggu) selama 10 minggu. Sedangkan pemberian MTX dilakukan sebanyak satu kali seminggu selama 10 minggu.

Pengamatan dilakukan setiap hari meliputi munculnya kanker, jenis dan jumlah kanker, serta kematian.

Hasil dan Pembahasan

Berdasarkan penelitian sebelumnya (Wahab, 2008), zerumbone yang merupakan senyawa terpenoid memiliki aktivitas antikanker. Hasil penapisan fitokimia (Tabel 1) dari ekstrak lempuyang wangi yang digunakan pada penelitian ini menunjukkan hasil positif untuk golongan senyawa steroid/ triterpenoid. Dengan demikian, ekstrak lempuyang wangi yang diuji mengandung zerumbone.

Tabel 1. Hasil Penapisan Fitokimia dan Karakterisasi Ekstrak Etanol Lempuyang Wangi

Penapisan Fitokimia	
Golongan	Hasil
Alkaloid	-
Flavonoid	+
Tanin	-
Saponin	+
Kuinon	-
Steroid/Triterpenoid	+

Karakterisasi Ekstrak	
Parameter	Hasil
Kadar air (% v/b)	7,79
Kadar abu (% b/b)	0,67
Kadar sari larut air (% b/b)	18
Kadar sari larut etanol (% b/b)	98,86

Keterangan: (+) = menunjukkan hasil positif
(-) = menunjukkan hasil negatif

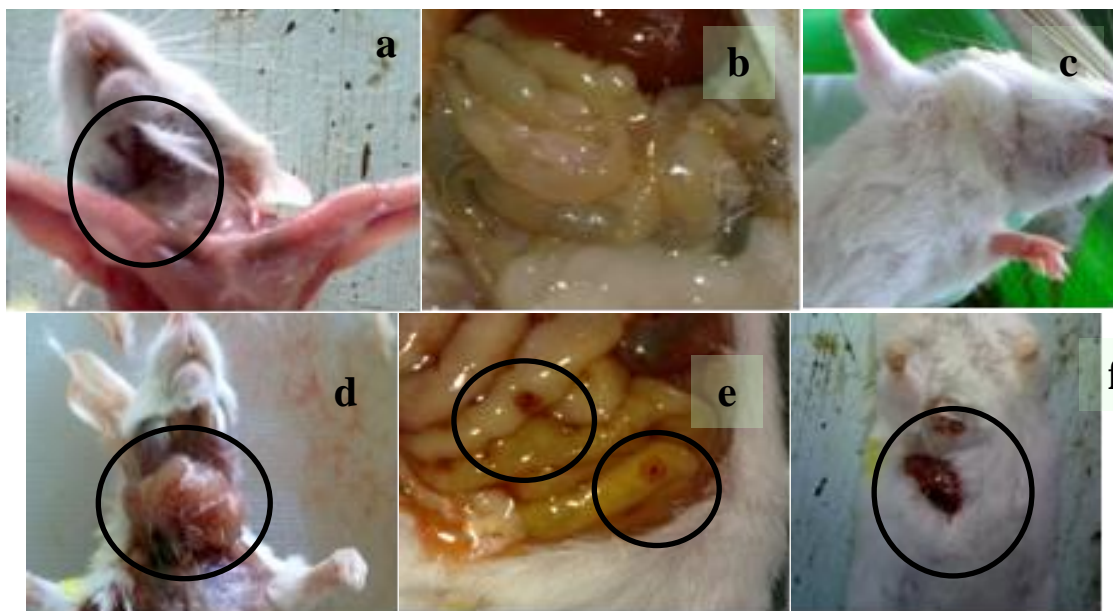
Kanker pertama muncul pada minggu kedua setelah induksi dengan DMBA terjadi pada kelompok kontrol. Kanker yang teramati pada hewan yang diinduksi DMBA adalah kanker hati, kanker kulit, limfoma, dan kanker kolon. Mencit yang menderita kanker hati, pada organ hatinya terlihat bercak-bercak putih yang menunjukkan terjadi sirosis. Limfoma merupakan kanker yang paling banyak diderita mencit pada kelompok kontrol ditandai dengan terjadinya pembengkakan pada nodus limfe. Kanker kulit terjadi pada ujung-ujung jari, ujung hidung, punggung dan bagian dada mencit. Hal ini sesuai dengan penelitian yang sudah ada sebelumnya, bahwa DMBA dapat menginduksi kanker kolon, limfoma, kanker kulit, kanker hati, dan kanker payudara (Qing, *et al.*, 1997).

Pada kelompok kontrol persentase terjadinya kanker adalah sebesar 100%. Pada kelompok ini kanker muncul pertama kali pada minggu ke-2 sebanyak 1 kanker, dan terus meningkat setiap minggunya sampai sebanyak 11 kanker pada minggu ke-6, dan minggu ke-10 sebanyak 33 kanker. Jenis kanker yang terjadi

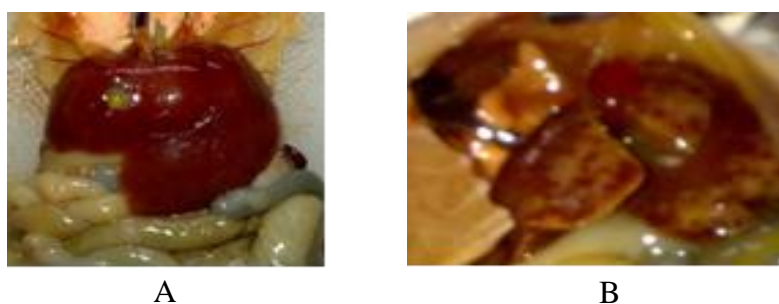
pada kelompok ini adalah kanker kolon, kanker kulit, dan limfoma.

Pada kelompok yang diberikan MTX, kanker pertama kali muncul pada minggu ke-6 sebanyak 3 kanker, dan menurun pada minggu ke-7 menjadi 2 kanker, dan pada minggu ke-8 sampai 10 kanker sudah tidak teramati lagi. Jenis kanker yang terjadi pada kelompok ini adalah kanker kulit yang tumbuh pada ujung-ujung jari dan ujung hidung.

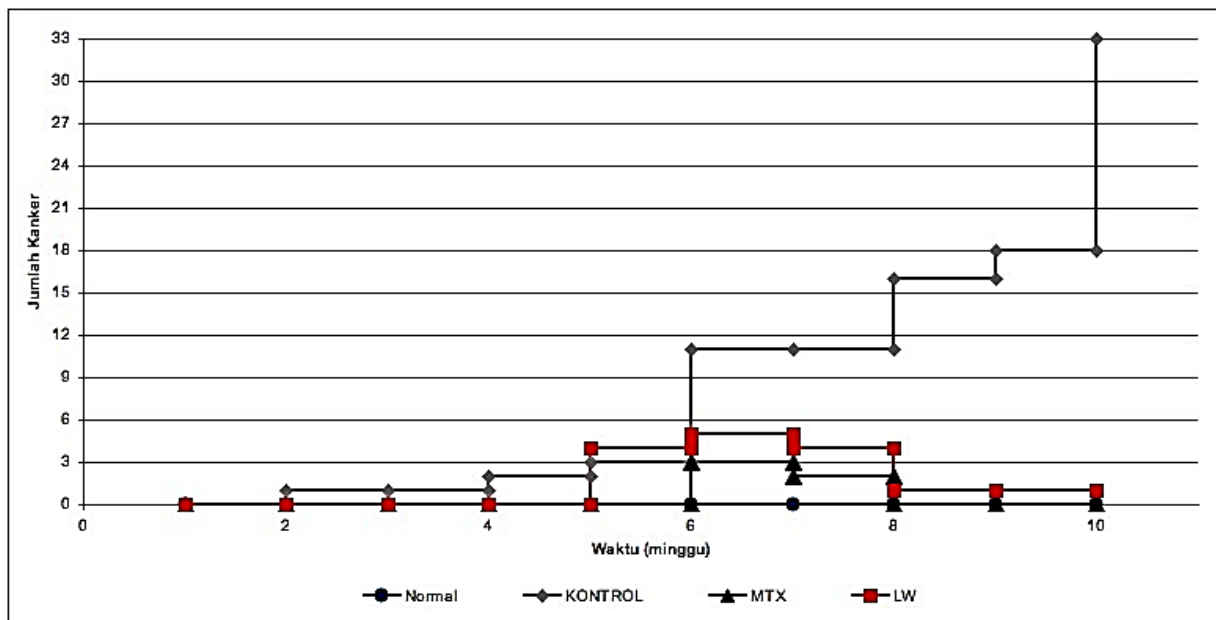
Ekstrak etanol lempuyang wangi dengan dosis 130 mg/kg bb dapat menahan munculnya kanker sampai pada minggu ke-5, dengan jumlah mencit yang terkena kanker sebanyak 4 ekor dari total populasi 5 ekor (80%). Pada minggu ke-6, jumlahnya meningkat menjadi 5 kanker, pada minggu ke-7 terjadi penurunan menjadi 1 kanker dan jumlahnya tetap sampai pada akhir minggu ke-10. Pada kelompok ini, kanker kulit paling banyak terjadi dan ditambah 1 kejadian kanker hati.



Gambar 1. Kelompok mencit normal: (a) nodus limfe normal; (b) kolon normal; (c) kulit normal. Kanker yang terjadi pada mencit: (d) kanker pada nodus limfe; (e) kanker kolon; (f) kanker kulit.



Gambar 2. Organ hati mencit normal (a); organ hati mencit yang terkena kanker (b)

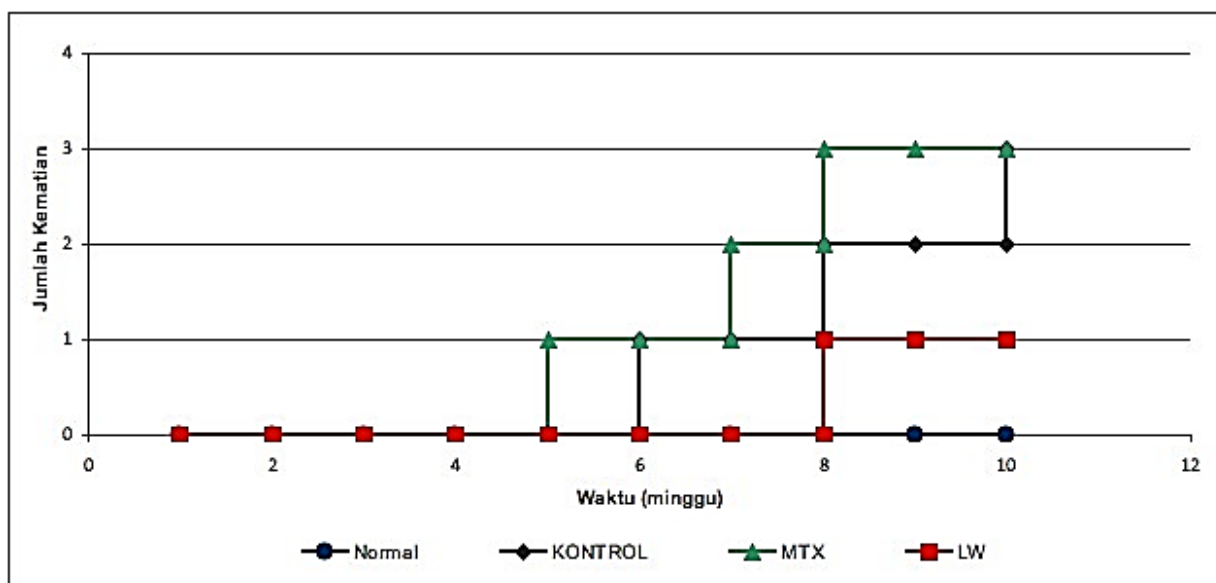


Gambar 3. Grafik jumlah kanker yang muncul pada mencit selama 10 minggu; MTX: Metotreksat; LW: Ekstrak Lempuyang Wangi

Persentase terjadinya kematian pada kelompok kontrol adalah sebesar 60%. Sedangkan pada kelompok yang diberi MTX, kematian terjadi pada 3 ekor dari total populasi 5 ekor atau sebesar 60%. Pada kelompok yang diberi ekstrak lempuyang wangi persentase kematian yang terjadi adalah sebesar 20%. Setiap mencit yang mati dibedah untuk diamati organ mana yang terkena kanker dan jenisnya.

penggunaan jangka panjang tanpa disertai antidotnya. MTX merupakan analog asam folat sintetik yang memiliki mekanisme kerja sebagai inhibitor enzim dihidrofolat reduktase (DHFR) dalam metabolisme asam folat. Afinitas DHFR terhadap MTX lebih tinggi dibandingkan afinitasnya terhadap asam folat. Angka kematian yang tinggi pada kelompok hewan yang diberi MTX dapat disebabkan oleh tidak mampunya tubuh mencit mereduksi asam folat yang dibutuhkan untuk pembentukan protein esensial.

Kematian yang terjadi pada kelompok MTX disebabkan oleh efek toksik dari obat karena



Gambar 4. Grafik jumlah kematian selama 10 minggu

Kesimpulan

Ekstrak etanol lempuyang wangi dengan dosis 130 mg/kg memiliki aktivitas khemopreventif dilihat dari kemampuannya menurunkan jumlah munculnya kanker dan kematian yang terjadi pada mencit yang diinduksi kanker dengan DMBA dibandingkan dengan kelompok kontrol.

Daftar Pustaka

- Anggarwal, B. B., A. B. Kunnumakkara, K. B. Harikumar, S. T. Tharakan, B. Sung, P. Anand, 2008, *Potential of Spice-Derived Phytochemicals for Cancer Prevention*, *Planta Med*; 74: 1560-1569
- Balasubramanian, S. G., 1996, *Inhibitory effect of dietary flavonol quercetin on 7,12-dimethylbenz[a]anthracene-induced hamster buccal pouch carcinogenesis*, *Carcinogenesis* 17 (4), 877-879.
- Currier N., S. E. Solomon, E. G. Demicco, 2005, *Oncogenic Signaling Pathways Activated in DMBA-Induced Mouse Mammary Tumors*, *The Society of Toxicologic Pathology*, 726-737.
- Ditjen POM, 1989, *Materia Medika Indonesia*, Jilid I, Departemen Kesehatan RI, Jakarta, 18-20.
- Sudarsono, P., D. Gunawan, S. Wahyuono, I. A. Donatus, Purnomo, 2002, *Tumbuhan Obat II*, Hasil Penelitian, Sifat-sifat dan Penggunaan, Pusat Studi Obat Tradisional-UGM, Yogyakarta, 186-188.
- Heyne, K., 1987, *Tumbuhan Berguna Indonesia*, Jilid 1, terjemahan Badan Litbang Kehutanan, Yayasan Sarana Wana Jaya, Jakarta, 574, 594.
- Karthikeyan, K. V. M., S. Govindasamy, 1999, *Spectrofluorometric Detection of DMBA-Induced Mouse Skin Carcinoma*, *Pathology Oncology Research* 5(1), 46-48.
- Kirana, C., G. P. Jones, I. R. Record, and G. H. McIntosh, 2003, *Screening for Antitumor Activity of 11 Species of Indonesian Zingiberaceae Using Human MCF-7 and HT-29 Cancer Cells* *Pharmaceutical Biology*, Vol. 41, No. 4, pp.217-276.
- Kirana, C., G. P. Jones, I. R. Record, and G. H. McIntosh, 2006, *Anticancer Properties of Panduratin A Isolated from Boesenbergia pandurata (Zingiberaceae)*, *The Japanese Society of Pharmacognosy and Springer*, 131-137.
- Kirkwood, J. M., M. T. Lotze, J. M. Yasuko, 1996, *Current Cancer Therapeutic*, 2nd ed., Edward Brothers Inc., Philadelphia, 62, 123, 226.
- Muralinaidu, S., S. Jayalakshmi, C. R. Ramachandran, 2008, *Autofluorescence Spectroscopy of Oral Squamous Cell Carcinoma*, *J. Med. Sci* 8 (6), 559-563.
- Dharmaputri, N., 2009, *Aktivitas Antitumor Ekstrak Etil Asetat Bawang Kapal dan Ekstrak Etanol Temu Putih Pada Mencit yang Diinduksi DMBA*, tugas akhir sarjana, Prodi Sains dan Teknologi Farmasi, Sekolah Farmasi, ITB, Bandung.
- Rashid, R. A., H. L. P. Azimatol, (2005), *The Antiproliferative Effects Of Zingiber Zerumbet Extracts And Fractions On The Growth Of Human Breast Carcinoma Cell Lines*, *Malaysian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 3 (1). 45-52.
- Wahab, S. I. A., A. B. Abdul, H. C. Yeel, A. S. Alzubairi, M. M. Elhassan and M. M. Syam, 2008, *Anti-tumor Activities of Analogues Derived from the Bioactive Compound of Zingiber zerumbet*, *International Journal of Cancer Research*.
- Trakoontivakorn, G., K. Nakahara, H. Shinmoto, M. Takenaka, M. Onishi-Kameyama, H. Ono, M. Yoshida, T. Nagata, and T. Tsushida, 2001, *Structural Analysis of a Novel Antimutagenic Compound, 4-Hydroxypanduratin A, and the Antimutagenic Activity of Flavonoids in Thai Spice, Fingerroot (Boesenbergia pandurata Schult.) against Mutagenic Heterocyclic Amines*, *American Chemical Society*.
- Vengadesan, N., P. Aruna, S. Ganesan, 1998, *Characterization of native fluorescence from DMBA-treated hamster cheek pouch buccal mucosa for measuring tissue transformation*, *British Journal of Cancer* 77 (3), 391-395.
- Qing, Wei-Guo, C. J. Conti, M. LaBate, D. Johnston, T. J. Slaga, M. C. MacLeod, 1997, *Induction of Mammary Cancer and Lymphoma by Multiple, Low Oral Dose of 7,12-dimethylbenz[a]anthracene in Sencar Mice*, *Carcinogenesis* vol. 18 no.3, 553-559.