

PCUMCJ 'RWDNMCUK

**PENGARUH EKSTRAK ETANOL RIMPANG TEMULAWAK
(*Curcuma xanthorriza, Roxb*) TERHADAP EKSPRESI P53 PADA
SEL HELA KANKER SERVIKS**



Disusun oleh

Khadijah Adha Kamila

20150310114

**PROGRAM STUDI PENDIDIKAN DOKTER
FAKULTAS KEDOKTERAN DAN ILMU KESEHATAN
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH YOGYAKARTA
2018**

HALAMAN PENGESAHAN NASKAH PUBLIKASI

PENGARUH EKSTRAK ETANOL RIMPANG TEMULAWAK (*Curcuma xanthorriza, Roxb*) TERHADAP EKSPRESI GEN P53 PADA SEL HELA KANKER SERVIKS

Disusun oleh:

KHADIJAH ADHA KAMILA

20150310114

Telah disetujui dan diseminarkan pada tanggal 26 September 2018

Dosen Pembimbing

Dosen Penguji



dr. Indrayanti Sp.PA

Dra. Yoni Astuti, M.Kes., Ph.D

NIK : 19700810199709 173 029

NIK : 19660814199409 173 009

Mengetahui,

Kaprodi Pendidikan Dokter

Dekan

Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan

Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan

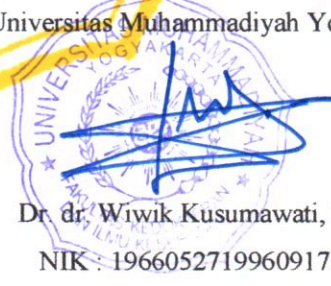
Universitas Muhammadiyah Yogyakarta

Universitas Muhammadiyah Yogyakarta



Dr. dr. Sri Sundari, M.Kes

NIK : 19670513199609 173 019



Dr. dr. Wiwik Kusumawati, M.Kes

NIK : 19660527199609173018

**The Effect Of Ethanoli Extract Of Curcumin Roots (*Curcuma Xanthorrhiza*, *Roxb*)
Against P53 Gene Expression In Cervical Cancer Hela Cells**

**Pengaruh Ekstrak Etanol Rimpang Temulawak (*Curcuma Xanthorrhiza*, *Roxb*)
Terhadap Ekspresi Gen P53 Pada Sel Hela Kanker Serviks**

Indrayanti¹, Khadijah Adha Kamila²

¹ Bagian Patologi Anatomi FK UMY, ² Mahasiswa Fakultas Kedokteran UMY

ABSTRACT

Background: Cervical cancer is a public health problem in Indonesia and in the world, due to the high incidence and mortality rate. Cervical cancer is the second most common type of cancer in women. The comprehension about carcinogenesis initiate the development of new strategies for cancer prevention, namely the finding of chemo-preventive compounds. Chemo-preventive is a compound that can be used to inhibit, delay, and restore the process of cancer. *Temulawak* or *Curcuma xanthorrhiza* contains *curcuma* and *xanthorrhiza* which are the main active substances as antioxidants, anticancer and immune-modulators which play an important role in inhibiting carcinogenesis.

Methods: Pure experimental research conducted on cervical cancer *hela* cells with ethanol extract of ginger rhizome which are divided into 4 concentrations. Ethanol extract was carried out by cytotoxic test to determine IC50. Pro-apoptosis testing of cervical cancer cells by observing p53 gene expression in chemical immunocytes method.

Result : Cytotoxic tests were carried out to get IC50 results of 32.36 µg / ml. The values of IC50 are then made into 3 concentrations, namely ½ IC50, IC50, and 2xIC50. The results of ICC testing showed that there was an increase in the p53 gene expression index (p <0.05) in the concentration group ½ IC50 and IC50. The expression of p53 in the IC50 concentration group was higher than the ½ IC50 concentration group. There is no living cell in the 2xIC50 concentration group so that the expression of p53 cannot be assessed.

Conclusion: The ethanol extract of ginger rhizome has the potential as a chemo-preventive agent to prevent cervical cancer because it increases apoptotic activity in the cells of cervical cancer. The potential of cell apoptosis which is influenced by the *temulawak* (*Curcuma xanthorrhiza*, *roxb*) ethanol extract with the optimal dose that can be used is IC50 which is 32.36 µg / ml.

Keywords: *curcuma*, *xanthorrhizol*, apoptosis, anti-carcinogenesis, immunocytochemistry.

INTISARI

Latar Belakang : Kanker serviks merupakan masalah kesehatan masyarakat di Indonesia dan di dunia, sehubungan dengan angka kejadian dan angka kematiannya yang tinggi. Kanker serviks merupakan jenis kanker terbanyak kedua pada wanita dan menjadi penyebab lebih dari 250.000 kematian pada tahun 2005. Pemahaman mengenai karsinogenesis mengawali upaya pengembangan strategi baru yang menjanjikan untuk pencegahan kanker yaitu penemuan senyawa kemopreventif. Kemopreventif merupakan suatu senyawa yang dapat digunakan untuk menghambat, menunda, dan mengembalikan proses terjadinya kanker. Temulawak memiliki kandungan kurkumin dan santorizol yang merupakan zat aktif utama pada temulawak yang memiliki aktifitas sebagai antioksidan, antikanker dan imunomodulator yang berperan penting pada penghambatan karsinogenesis.

Metode : Penelitian eksperimental murni dilakukan terhadap sel hela kanker serviks dengan pemberian ekstrak etanol rimpang temulawak yang dibagi menjadi 4 konsentrasi. Ekstrak etanol dilakukan uji sitotoksik untuk menentukan IC50. Pengujian proapoptosis sel hela kanker serviks dengan mengamati ekspresi gen p53 pada metode immunosito kimia.

Hasil : uji sitotoksik yang dilakukan mendapatkan hasil IC50 sebesar 36.12 ± 6.66 . nilai IC50 kemudian dijadikan 3 konsentrasi yaitu, $\frac{1}{2}$ IC50, IC50, dan $2 \times$ IC50. Hasil dari pengujian ICC menunjukkan bahwa terjadi peningkatan indeks ekspresi gen p53 ($p < 0.05$) pada kelompok konsentrasi $\frac{1}{2}$ IC50 dan IC50. Ekspresi dari p53 pada kelompok konsentrasi IC50 lebih tinggi dibandingkan dengan kelompok konsentrasi $\frac{1}{2}$ IC50. Pada kelompok konsentrasi $2 \times$ IC50 tidak terdapat sel hidup sehingga tidak dapat dilihat ekspresi p53.

Kesimpulan : Ekstrak etanol rimpang temulawak berpotensi sebagai agen kemopreventif untuk mencegah kanker serviks karena meningkatkan aktivitas apoptosis pada sel HeLa kanker serviks. Potensi apoptosis sel yang dipengaruhi oleh ekstrak etanol rimpang temulawak (curcuma xanthorrhiza, roxb) dengan dosis optimal yang dapat digunakan adalah IC50 yaitu $36.12 \pm 6.66 \mu\text{g} / \text{ml}$.

Keyword: Curcuminoid, Xanthorrhizol, Apoptosis, Anti karsinogenesis, Immunositokimia.

Pendahuluan

Kanker

serviks atau umumnya disebut kanker mulut rahim merupakan masalah kesehatan masyarakat di Indonesia dan di dunia, sehubungan dengan angka kejadian dan angka kematiannya yang tinggi. Meskipun sudah ditemukan penatalaksanaan terapi pada penderita kanker serviks, namun kematian akibat kanker serviks masih tinggi yaitu sebesar 250.000/tahun. Diperlukan strategi baru dalam penanganan permasalahan kanker servik di Indonesia di samping sistem pengobatan yang sudah ada agar terjadi penurunan kejadian kanker serviks di masyarakat¹. Semakin mahalnya harga obat modern dan reaksi efek samping obat telah mendorong laju gerakan *back to natur*². Sebagai negara terbesar ke-2 dalam hal keragaman dan jumlah tanaman obat, Indonesia berpeluang besar untuk mengembangkan tanaman obat/jamu sebagai alternatif penanganan masalah kanker serviks di masyarakat².

Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza*, Roxb.) adalah salah satu tanaman obat bahan jamu yang secara empiris sudah dimanfaatkan oleh masyarakat luas untuk peningkat nafsu makan, antioksidan, antikanker, hepatoprotektor, dan peningkat imunitas tubuh^{3,4}. Kurkumin dan santorizol merupakan zat aktif utama temulawak⁴. Secara laboratorik telah dibuktikan bahwa santorizol temulawak memiliki efek sebagai antiinflamasi, antikanker, antioksidan, antihiperlikemia, antibakteri dan antihipertensi⁵. Sebagai antikanker, temulawak telah dibuktikan secara laboratorik in vitro memiliki aktifitas proapoptosis dan anti proliferasi pada beberapa jenis sel kanker. Cheah et al (2006) telah membuktikan bahwa santorizol bersifat sitotoksik terhadap sel kanker mammae MCF7 dengan menginduksi apoptosis. Handayani et al. (2007) dengan menggunakan sel kanker hepatoma menunjukkan bahwa mekanisme proapoptosis dari senyawa santorizol adalah melalui pengaturan aktifitas gen p53, Bax dan Bcl2. Gen p53 merupakan gen proapoptosis yang bersifat

antikarsinogenesis. Berdasarkan data hasil penelitian ini maka ekstrak rimpang temulawak diduga mencegah karsinogenesis kanker serviks melalui pengaturan gen p53⁶.

Kanker serviks merupakan tumor ganas yang terjadi pada sel epitel squamosal. Karsinogenesis merupakan proses modifikasi genetik yang terjadi pada sel normal menjadi bentuk progresif bahkan dapat menjadi ganas. Perlu dilakukan tinjauan lebih lanjut untuk menemukan strategi baru dalam usaha preventif pada penyakit kanker sebagai terapi tambahan sebagai kemopreventif. Sebelum kanker, terjadi lesi prekanker atau disebut *cervical intraepithelial neoplasia (NIS)*. Penyebab utama terjadinya kanker adalah infeksi dari Human Papillo Virus (HPV)⁷. Kanker serviks merupakan penyakit progresif, diawali dengan intraepitel, transformasi ke bentuk neoplastic, dan terjadinya kanker serviks setelah 10 tahun atau lebih. Pada gambaran histopatologi, lesi preinvasif biasanya berkembang menjadi displasia berat ke dalam in situ dan akhirnya akan terjadi karsinoma. Karsinogenesis pada umumnya proses dari perubahan kanker disebabkan karena mutasi dari cell cycle control gene. Oncogenes dan gene suppressor tumors mempunyai efek yang berkebalikan dalam karsinogenesis, dimana onkogenakan memulai terjadinya transformasi keganasan, disaat gen suppressor tumor akan menghambat perkembangan tumor dengan mempengaruhi pertumbuhan sel. Meskipun kanker invasif berkembang melalui perubahan intraepitel, tidak semua perubahan ini berkembang menjadi invasi. Lesi preinvasif akan mengalami regresi spontan sebanyak 3 -35%. Kandungan temulawak diduga terlibat dan memainkan peran penting dalam perubahan tahap karsinogenesis pada kanker serviks.

Apoptosis melibatkan mekanisme yang kompleks baik melalui jalur mitokondria, melalui reseptor kematian atau melalui jalur kelangsungan

hidup. Ketiga jalur ini melibatkan aktivasi regulator caspase, Caspase-8 atau Caspase-9. Ini adalah fenomena yang menarik, karena fenomena apoptosis melalui aktivasi caspase-9 biasanya melibatkan p53, sementara sel T47D telah kehilangan fungsi p53 mereka. Hilangnya fungsi p53 dalam sel telah mengalami mutasi pada 194 residu, sehingga leusin berubah menjadi fenilalanin pada protein p53 yang menyebabkan p53 menjadi malfungsi. Ini menghasilkan p53 pada sel T47D yang kehilangan fungsi dalam penghambatan siklus sel fase G1 dan G2 atau memacu apoptosis. Mutasi ini menghasilkan protein p53 tidak mampu mengatur protein proapoptotik yang dikelola oleh p53 seperti BAX dan PUMA.

Masalah dan Tujuan Penelitian

Berdasarkan latar belakang ini, rumusan masalah penelitian ini secara umum adalah bagaimana mekanisme temulawak kemopreventif pada sel HeLa. Lebih khusus masalah penelitian adalah bagaimana pengaruh ekstrak temulawak pada ekspresi p53 pada sel HeLa. Penelitian ini dirancang untuk menjawab tujuan penelitian untuk mengetahui pengaruh ekstrak temulawak pada ekspresi p53 pada sel HeLa.

Metode Penelitian

1. Pembuatan ekstrak etanol rimpang temulawak

Sampel dimasukkan dalam botol bertutup 25 ml; 10,0 ml etanol 95% ditambahkan secara seksama. Sampel disimpan pada tempat gelap selama 24 jam; 1 ml bagian bening diambil dan dimasukkan dalam tabung sentrifuse; sampel disentrifus selama 5 menit pada 10.000 rpm (sampel siap ditotolkan).

2. Pembuatan berbagai konsentrasi larutan uji

Sampel dari ekstrak etanol temulawak ditimbang sebanyak 10mg kemudian dilarutkan kedalam 100µl DMSO sehingga diperoleh konsentrasi larutan sampel adalah 100.000 µg/ml. selanjutnya dibuat seri konsentrasi sebesar 600 µg/ml, 200 µg/ml, dan 125 µg/ml.

3. Biakan sel HeLa kanker serviks

Kultur sel HeLa diambil dari stok yang disimpan dalam tangki cair yang diletakkan dalam lokator pada suhu -196°C. Ampul yang berisi sel dicairkan dalam air ± 37.7 °C, kemudian ampul disemprot dengan alkohol 70%. Ampul dibuka dan sel dipindahkan ke dalam tabung conical steril yang berisi 10 ml medium RPMI 1640. Suspensi sel disentrifuge dengan kecepatan 1500 rpm selama ± 5 menit. Supernatan dibuang, pellet ditambah 1 ml medium penumbuh RPMI 1640 yang mengandung FBS 10%. Lalu diresuspensikan perlahan sampai homogen. Selanjutnya sel ditumbuhkan dalam beberapa (2-3) buah tissue culture flask kecil dan diinkubasi dalam inkubator pada suhu 37°C dengan aliran 5% CO₂ dan 95% O₂. Setelah 24 jam, media diganti dan sel ditumbuhkan sampai konfluen dan jumlahnya cukup untuk penelitian¹¹.

4. Pemanenan sel HeLa

Setelah jumlah sel HeLa cukup atau konfluen (± 70%), medium dibuang. Selanjutnya dicuci dengan PBS sebanyak dua kali. Kemudian ditambahkan tripsin 0,25% sebanyak 300 µL, dan diinkubasi selama tiga menit di dalam inkubator. Selanjutnya ditambahkan ± 5 mL medium kultur, lalu diresuspensi secara perlahan menggunakan pipet. Sel telah siap digunakan untuk penelitian¹².

5. Immunositokimia

Penanaman sel hela pada 24 well plate. Konsentrasi IC₅₀ disiapkan dalam 3 kelompok konsentrasi, IC₅₀, ½ IC₅₀ dan 2xIC₅₀ masing-masing sebanyak 1000 µl lalu inkubasi selama 24 jam. Kemudian dilakukan pencucian tiap-tiap sumuran dengan PBS sebanyak 2 kali. Pada 6 well plate dimasukkan cover slip pada setiap sumuran sebagai tempat sel untuk menempel. Kemudian sumuran diteteskan 300 µl metanol dingin, lalu diinkubasi 10 menit di dalam freezer. Pada tiap sumuran ditambahkan 500 µl akuades, didiamkan selama 5 menit kemudian akuades dibuang. Dilanjutkan dengan larutan hidrogen peroksida (*blocking solution*) diinkubasi selama 10 menit lalu larutan dibuang dengan mikropipet.

Diteteskan *prediluted blocking serum* dilanjutkan inkubasi selama 10 menit lalu larutan dibuang. Antibodi monoklonal primer untuk antigen yaitu gene p53 diteteskan pada setiap sumuran yang

ingin diamati. Lalu ditambahkan 500 µl PBS, inkubasi selama 5 menit lalu PBS dibuang. Teteskan antibodi sekunder yang dilabel biotin (*biotinylated universal secondary antibody*), inkubasi selama 10 menit dan ditambahkan 500 µl PBS, inkubasi selama 5 menit kemudian PBS dibuang. Teteskan reagen yang berisi kompleks streptavidin-enzim peroksidase, inkubasi selama 10 menit lalu dicuci dengan PBS. Kemudian tambahkan larutan substrat kromogen DAB, inkubasi selama 10 menit lalu cuci dengan akuades. Teteskan larutan MayeHaematoxylin, dan diinkubasi selama 3 menit. Cover slip diangkat dengan pinset secara hati-hati, kemudian di celupkan ke dalam xylol kemudian alkohol. Keringkan cover slip. *cover slip* diletakkan di atas *object glass*, dan ditetesi dengan lem (*mounting media*). *Cover slip* ditutup dengan cover slip kotak. (CCRC, 2009).

Hasil dan Pembahasan

1. Ekstraksi temulawak

Penelitian ini menggunakan rimpang temulawak (*Curcuma xanthorrhiza, Roxb*) yang didapatkan dari pasar Beringharjo sebanyak 3kg. Pengekstrakan rimpang temulawak (*Curcuma xanthorrhiza, Roxb*) dilakukan di Laboratorium Penelitian dan Pengembangan Terpadu Universitas Gadjah Mada menggunakan metode maserasi.

2. Uji sitotoksisitas rimpang temulawak pada sel Hela

Parameter atau indikasi untuk menilai potensi kemopreventif antiproliferasi dari ekstrak temulawak yang diujikan pada kultur sel hela dengan melakukan uji sitotoksisitas ekstrak temulawak terhadap sel Hela. Pada uji sitotoksisitas ini dilakukan dengan metode

pengamatan dengan MTT (3 – (4–5 – dimetiltiazol-2-yl) – 2,5 – difenil tetrazolium bromid). Prinsip dasarnya adalah kerja enzim mitokondria pada sel aktif yang memetabolisme garam tetrazolium, sehingga terjadi pemutusan cincin tetrazolium oleh enzim dehidrogenase yang menyebabkan tetrazolium berubah menjadi formazan yang tidak larut dan berwarna ungu (Mosmann, 1983)

Hasil ekstraksi rimpang temulawak dengan etanol 95% didapatkan dengan bentuk pasta kental seberat 52,13%gram dengan warna hitam kekuningan.

Berdasarkan data dapat diketahui bahwa terdapat hubungan antara konsentrasi ekstrak temulawak dengan persentase sel hidup. Semakin rendah konsentrasi ekstrak temulawak maka persentase sel hidup semakin tinggi.

3. Penentuan Nilai IC50

Pengukuran nilai IC50 dapat dihitung dengan menggunakan nilai log konsentrasi ekstrak temulawak dengan persentase sel hidup seperti dicantumkan dalam tabel 2.

Potensi kemopreventif pada uji MTT menunjukkan bahwa nilai IC50 dari ekstrak temulawak pada sel HeLa dapat diukur dari nilai $y=5$. Nilai IC50 dapat ditentukan melalui antilog dari nilai x pada persamaan regresi tersebut dimana $y=5$. Berdasarkan rumusan tersebut maka besar IC50 yang didapat adalah 32.36 µg / ml

Menurut Kamuhabwa et al. (2000), jika suatu ekstrak memiliki nilai IC 50 <100 µg/ml maka dapat dikatakan memiliki potensi sebagai antiproliferasi, sedangkan menurut National Cancer Institute (NCI) mengelompokkan suatu senyawa tergolong antikanker jika IC 50 <20 µg/ml. Hasil uji tersebut menunjukkan bahwa ekstrak rimpang temulawak (*Curcuma xanthorrhiza, Roxb*)

berpotensi sebagai agen kemopreventif pada kanker serviks.

4. Mekanisme kemopreventif temulawak pada ekspresi p53 menggunakan metode imunositokimia

Metode Imunositokimia digunakan untuk melihat adanya peningkatan ekspresi gen p53 pada sel HeLa kanker serviks. Penelitian ini menggunakan 3 nilai konsentrasi IC50 yaitu konsentrasi $\frac{1}{2}$ IC50, konsentrasi sama dengan IC50 dan dua kali dari nilai IC50. Antibodi monoklonal primer gene p53

Berdasarkan hasil pengecatan dengan menggunakan metode ICC dapat dilihat adanya ekspresi gen p53 pada inti sel kanker HeLa yang memiliki warna lebih gelap. Hal tersebut dapat nya sel hidup pada kelompok $2 \times IC50$.

Berdasarkan data diketahui bahwa ekstrak temulawak meningkatkan ekspresi p53 pada sel HeLa kanker serviks pada kedua kelompok konsentrasi. Hasil dari perhitungan ekspresi gen p53 pada konsentrasi $\frac{1}{2}$ IC50 dan IC50 terjadi peningkatan index ekspresi p53 ($p < 0.05$). Ekspresi dari p53 pada kelompok konsentrasi $=IC50$ lebih tinggi dibandingkan dengan kelompok konsentrasi $\frac{1}{2}IC50$. Pada kelompok konsentrasi $2 \times IC50$ tidak terdapat sel yang hidup sehingga ekspresi p53 tidak dapat dilihat. Hasil dari data tersebut menunjukkan bahwa konsentrasi IC50 efektif untuk meningkatkan proses apoptosis pada sel HeLa kanker serviks.

Perbandingan setiap kelompok control dan kelompok konsentrasi didapatkan hasil yang signifikan ($p < 0.05$). Hal ini dilihat dari perbandingan nilai $\frac{1}{2}$ IC50 dengan IC50 dengan hasil signifikansi 0.042, perbandingan nilai IC50 dengan control media dengan hasil signifikansi 0.000, dan perbandingan nilai $\frac{1}{2}$ IC50 dengan control media dengan hasil signifikansi 0.000.

diteteskan pada setiap sumuran dengan penambahan antibodi sekunder biotin. Penambahan antibodi primer dan sekunder bertujuan untuk melihat adanya perbedaan ekspresi gene p53 pada setiap kelompok perlakuan yang ditunjukkan dengan adanya warna merah.

Interpretasi uji imunositokimia

Pengujian apoptosis dengan menggunakan uji ICC yang dilakukan dengan penambahan gen p53.

terjadi akibat gen p53 yang bekerja pada inti sel sebagai agen apoptosis pada sel. Namun tidak terlihat ada

Senyawa antorizol mampu menginduksi terjadinya apoptosis pada sel. Uji santhorizol yang dilakukan pada sel normal yang diawali dengan terjadi pengikatan oleh protein seperti Mdm2 melalui jalur proteasom ubiquitin-26S yang nantinya yang meningkatkan degradasi p53. Terjadinya proses degradasi diperankan oleh protein ubiquitin (Ub). Proses proteolitik bermula dengan terjadinya penempelan Ub pada protein target Mdm2. Protein Ub konjugasi akan dijadikan sinyal yang diberikan oleh Ub sehingga terjadi proses katabolisme oleh proteasome 26S (Das and Vinayak, 2015).

menghambat jalur COX2 atau iNOS (inducible Nitric Oxide Synthase), yang merupakan mediator penting dalam inflamasi dan karsinogenesis. Pemicuan aktivitas peradangan diatur oleh COX2 melalui sintesis prostaglandin E2 (PGE2) di berbagai jaringan. Ekspresi COX2 dan juga produksi PGE2 diatur oleh *Transforming growth factor $\beta 1$* (TGF- $\beta 1$) (Lin dan Hwang, 1991; Hishikawa et al, 1999; Ceraline et al, 1998). COX2 sering dinyatakan bersama dengan iNOS dan keduanya terlibat dalam perkembangan kanker sebagai pengatur

proliferasi, apoptosis dan angiogenesis. iNOS mempunyai peran penting dalam mediasi peradangan melalui nitrat oksida (NO) biosintesis, yang akan memodulasi ekspresi COX2 dan sintesis PGE2 dalam kondisi inflamasi (Pestell et al, 2000). Tingkat ekspresi iNOS merupakan petunjuk pertumbuhan sel kanker. Terjadinya peningkatan sedang dari iNOS akan meningkatkan pertumbuhan tumor, sedangkan peningkatan tingkat lebih lanjut dilaporkan bersifat sitotoksik untuk sel tumor, sehingga iNOS menunjukkan peran ganda selama pengembangan tumor (Nair dkk, 1999).

Kurkumin telah ditemukan untuk menghambat degradasi p53, dan memblokir Mdm2. Kurkumin menghambat fosforilasi p53, kemampuannya untuk mengikat DNA, dan transaktivasi gen yang berkorelasi dengan fungsinya sebagai penekan tumor (Das and Vinayak, 2015; Hallman et al., 2017). Penghambatan proliferasi terkait dengan penghambatan perkembangan siklus sel. Kurkumin telah terbukti menginduksi penghambatan siklus sel dalam fase G1, dan tampaknya menurunkan persentase sel yang memasuki fase S (Aggarwal, 2003). Kurkumin telah terbukti juga menghambat perkembangan siklus sel pada fase G2 / M. Penghambatan fase G1 akan menghasilkan penghambatan proses sintesis DNA (fase S) (Prayitno, 2005). Dalam sel-sel ini, kurkumin secara reversibel mengatur ekspresi Cip1 dan menginaktivasi pRB dan dengan demikian menghentikan siklus sel pada fase siklus G0. Oleh karena itu, sel-sel mengalami apoptosis akibat kurkumin pada fase G2. Hasil dari penelitian lain juga menunjukkan bahwa kurkumin menginduksi ekspresi p53 di usus besar, payudara, dan sel kanker lainnya. Kurkumin juga diduga menginduksi ekspresi p53 pada sel HeLa sehingga menghambat aktivitas proliferasi dengan mengistirahatkan sel HeLa ke G0 (Sa dan Das, 2008).

Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian ini dapat disimpulkan sebagai berikut :

1. Ekstrak etanol rimpang temulawak berpotensi sebagai agen kemopreventif untuk mencegah kanker serviks karena meningkatkan aktivitas apoptosis pada sel HeLa kanker serviks.
2. Potensi apoptosis sel yang dipengaruhi oleh ekstrak etanol rimpang temulawak (*curcuma xanthorrhiza*, roxb) dengan dosis optimal yang dapat digunakan adalah IC50 yaitu 32.36 µg / ml.

Saran

1. Perlu dilakukan penelitian sitotoksitas ekstrak etanol rimpang temulawak (*curcuma xanthorrhiza*, roxb) terhadap sel HeLa kanker serviks secara *in vivo*.
2. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut dengan menguji konsentrasi sampel secara akurat dan terperinci agar didapatkan dosis efektif sebagai agen apoptosis.
3. Perlu dilakukan penelitian menggunakan bahan herbal lain selain temulawak (*curcuma xanthorrhiza*, roxb)
4. Perlu dilakukan penelitian ekstrak (*curcuma xanthorrhiza*, roxb) pada sel kanker lainnya.

References

1. Rasyidi M. Epidemiologi Kanker Serviks, *Indonesian Journal of Cancer*; 2009. Vol.III, No. 3.
2. Donatus IA, Didik Gunawan, Djoko Wahyono, Toerono, dan Mulyono. *Risalah Simposium Penelitian Tumbuhan Obat III*, Fakultas Farmasi, Universitas Gajah Mada, Yogyakarta; 1983.
3. Cheah YH, Azimahtol HP, Abdullah NR. Xanthorrhizol Exhibits Antiproliferative Activity on MCF-7 Breast Cancer Cells via Apoptosis Induction,

- Anticancer Research*; 2006. 26: 4527-4534.
4. Kertia N, Sudarsono, Imono A, Mufrod, Catur E, Rahardjo P, Asdie A. Pengaruh Pemberian Kombinasi Minyak Atsiri Temulawak dan Ekstrak Kunyit Dibandingkan dengan Piroksikam terhadap Angka Leukosit Cairan Sendi Penderita Osteoarthritis Lutut. *Majalah Farmasi Indonesia*; 2005. 16(3):155-161.
 5. Oon SF, Nallappan M, Tee MT, Shohaimi S, Kassim NK, Sa'ariwijaya MSF, Chea YH. Xanthorrhizol: a review of its pharmacological activities and anticancer properties, *Cancer Cell International*; 2015. 15:100.
 6. Handayani T, Sakinah S, Nallappan M, Pihie AHL. Regulation of p53-, Bcl-2- and Caspase-dependent Signaling Pathway in Xanthorrhizol- induced Apoptosis of HepG2 Hepatoma Cells, *Anticancer Research*; 2007. 27: 965-972.
 7. Jagetia GC, Aggarwal BB. "Spicing Up" of the Immune System by Curcumin, *Journal of Clinical Immunology*; 2007. 27, 1, January 2007.
 8. Zhou Y, Xie M, Song Y, Wang W, Zhao H, Tian Y, et al. Two Traditional Chinese Medicines Curcumae Radix and Curcumae Rhizoma: An Ethnopharmacology, Phytochemistry, and Pharmacology Review, Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine; 2016. Volume 2016, Article ID 4973128, 30 p. Available from: <http://dx.doi.org/10.1155/2016/4973128>
 9. Andriastuti E. Pengaruh Pemberian THEE rimpang temulawak (*C. xanthorrhiza* Roxb.) Terhadap Aktivitas Sekresi ROI Oleh Makrofag Peritoneum Pada Tikus Betina Galur *Sprague Dawley* Yang Diinduksi Sel kanker SP C1, *Skripsi*, Fakultas Farmasi, Universitas Ahmad Dahlan, Yogyakarta; 2008.
 10. Aggarwal BB, Kumar A, Bharti AC. Anticancer Potential of Curcumin: Preclinical and Clinical Studies, *ANTICANCER RESEARCH*; 2003. 23: 363-398.
 11. Meye E. Sitotoksisitas dan Efek Ekstrak Etanol Kulit Buah Jambu Menté (*Anacardium occidentale* L.) Terhadap Sel Mieloma. Fakultas Biologi UGM. Yogyakarta; 2009.
 12. CCRC (Cancer Chemoprevention Research Center). Preparasi Sampel untuk Flowcytometry; 2009. Available from: <http://www.ccrc.farmasi.ugm.ac.i d>
 13. Rao MNA. *Antioxydant Properties of Curcumin*, Departement of Pharmaceutical Chemistry, College of Pharmaceutical Sciences, Manipal, India; 1990.
 14. Bose S, Panda AK, Mukherjee S, Sa G. Curcumin and tumor immune-editing:resurrecting the immune system, *Cell Division*; 2015. 10, 6.
 15. Kong F, Ye B, Cao J, Cai X, Lin L, Huang S, Huang W, Huang Z. Curcumin Represses NLRP3Inflammasome Activation via TLR4/MyD88 /NF-κB and P2X7R Signaling in PMA-Induced Macrophages, *Frontier in Pharmacology*; 2006. 7, Article 369 p.
 16. Leu DJ, Ataya R, Coiro J. Assessing assessment strategies among the 50 states: Evaluating the literacies of our past or our future? Paper presented at the 18th National Reading Conference. Miami, FL; 2002.
 17. Akrom. Mekanisme kemoprefentif ekstrak heksan BJH pada tikus SD diinduksi DMBA:kajian antioksidan dan imunomodulator, *Disertasi*, Program Doktor Ilmu Kedokteran dan kesehatan FK UGM, Yogyakarta; 2013.
 18. Sa G, Das T. Anti cancer effects of curcumin: cycle of life and death, *Cell Division* 2008; 2008. 3:14. DOI:10.1186/1747-1028-3-14

19. Prayitno IA, Darmawan R, Yuliadi I, Mudigdo A. Ekspresi Protein p53, Rb, dan c-myc pada Kanker Serviks Uteri dengan Pengecatan Immunohistokimia, B I O D I V E R S I T A S; 2005. Volume 6, No Juli 3th 2005, 157-159 p.