

VOLUME 7

ISSUE 1

JANUARY – JUNE 2019

Al-Kimia

Pemanfaatan Kompleks Polielektrolit sebagai Matriks untuk Imobilisasi Urease dan Aplikasinya sebagai Membran Biosensor Pemonitoran Hg(II)

Dhony Hermanto, Mudasir, Dwi Siswanta, Bambang Kuswandi

Isolasi dan Karakterisasi Asam Humat dari Tanah Dasar Bendungan Batujai Lombok Tengah NTB

Nurul Ismillayli, Dhony Hermanto

A Natural Dye-Sensitized from Pare (*Bitter Gourd*) Leaves Extracts for Dye-Sensitized Solar Cell (DSSC)

Wahidah Febriya Ramadhani, Aisyah A, Suriani S, Iswadi I

Aktivitas Sitotoksik Ekstrak Etanol dan N-Heksana Rimpang Temu Kunci (*Kaempferia Pandurata*) dan Pengaruhnya Terhadap Ekspresi Gen *P53* Dan *Bcl-2* Pada Raji *Cell Line*

Peni Lestarini, Endang Astuti, Deni Pranowo

Pengaruh Katalis NiMo Terhadap Kualitas Minyak Batubara Hasil Pencairan Secara Tidak Langsung

Rika Damayanti, Susila Arita R, Fitri Hadiah

Nanokomposit Antibakteri Berbasis Pati dan Nanopartikel Perak (AgNPs)

Ina Ristian

Synthesis of Nitro Ethyl Oleic from Used Cooking Oil

Nasriadi Dali, Arniah Dali

Sifat Fisika Kimia Tanah dan Daya Hambatnya Terhadap Bakteri Air Liur Anjing Liar

Sjamsiah, Arifuddin, Mashuri Masri, Sappewali, Indah Islamiah, Hardiyanti Hamrullah, Elmika Nesti

Aplikasi Mikrosimbiosis Spons Laut Sebagai Biomaterial Pereduksi Toksisitas Logam Berat Kromium

Ismail Marzuki, M. Iksan Ashari, Andi Asdar Marzuki, Anggi Angela

Optimisasi Produksi α -Amilase dari *Saccharomycopsis fibuligera* R64 dengan Response Surface Method-Central Composite Design (RSM-CCD)

Agus Safari, Ahsanul Chaliqin Gayo, Saadah Diana Rachman, Muhammad Yusuf, Safri Ishmayana

Utilization of Guava Leaves Extract (*Psidium Guajava*) as Ecofriendly Corrosion Inhibitor for Iron

Said Ali Akbar, Rika Ovisa, Muttakin

Jurusan Kimia UIN Alauddin Makassar

p-ISSN: 2302-2736

e-ISSN: 2549-9335



Al-Kimia

EDITOR IN CHIEF

Sjamsiah

MANAGING EDITOR

Ummi Zahra

REVIEWER

Sarifah Fauziah

Suminar Setiati

Irmanida Batubara

Sri Sugiarti

Muharram

Philiphi De Rosari

Desi Harneti Putri Huspa

Ajuk Sapar

Masriany

Asri Saleh

St .Chadijah

Asriyani Ilyas

SECTION EDITOR

Rani Maharani

Iin Novianty

Firnelty

Chusnul Khatimah

Satriani

PUBLISHER

Department of Chemistry

Faculty of Science and Technology

Universitas Islam Negeri Alauddin Makassar

Jl. H. M. Yasin Limpo No. 36 Gowa South Sulawesi Indonesia

E -mail: al-kimia@uin-alauddin.ac.id

Al-Kimia

TABLE OF CONTENT

Pemanfaatan Kompleks Polielektrolit sebagai Matriks untuk Imobilisasi Urease dan Aplikasinya sebagai Membran Biosensor Pemonitoran Hg(II) Dhony Hermanto, Mudasir, Dwi Siswanta, Bambang Kuswandi	1-9
Isolasi dan Karakterisasi Asam Humat dari Tanah Dasar Bendungan Batujai Lombok Tengah NTB Nurul Ismillayli, Dhony Hermanto	10-16
A Natural Dye-Sensitized from Pare (<i>Bitter Gourd</i>) Leaves Extracts for Dye-Sensitized Solar Cell (DSSC) Wahidah Febriya Ramadhani, Aisyah A, Suriani S, Iswadi I	17-24
Aktivitas Sitotoksik Ekstrak Etanol dan N-Heksana Rimpang Temu Kunci (<i>Kaempferia Pandurata</i>) dan Pengaruhnya Terhadap Ekspresi Gen <i>P53</i> Dan <i>Bcl-2</i> Pada Raji <i>Cell Line</i> Peni Lestari, Endang Astuti, Deni Pranowo	25-32
Pengaruh Katalis NiMo Terhadap Kualitas Minyak Batubara Hasil Pencairan Secara Tidak Langsung Rika Damayanti, Susila Arita R, Fitri Hadiah	33-38
Nanokomposit Antibakteri Berbasis Pati dan Nanopartikel Perak (AgNPs) Ina Ristian	39-45
Synthesis of Nitro Ethyl Oleic from Used Cooking Oil Nasriadi Dali, Arniah Dali	46-55
Sifat Fisika Kimia Tanah dan Daya Hambatnya Terhadap Bakteri Air Liur Anjing Liar Sjamsiah, Arifuddin, Mashuri Masri, Sappewali, Indah Islamiah, Hardiyanti Hamrullah, Elmika Nesti	56-66
Aplikasi Mikrosimbiosis Spons Laut Sebagai Biomaterial Pereduksi Toksisitas Logam Berat Kromium Ismail Marzuki, M. Iksan Ashari, Andi Asdar Marzuki, Anggi Angela	67-75
Optimisasi Produksi α -Amilase dari <i>Saccharomycopsis fibuligera</i> R64 dengan Response Surface Method-Central Composite Design (RSM-CCD) Agus Safari, Ahsanul Chaliqin Gayo, Saadah Diana Rachman, Muhammad Yusuf, Safri Ishmayana	76-90
Utilization of Guava Leaves Extract (<i>Psidium Guajava</i>) As Ecofriendly Corrosion Inhibitor for Iron Said Ali Akbar, Rika Ovisa, Muttakin	91-99

Aktivitas Sitotoksik Ekstrak Etanol Dan N-Heksana Rimpang Temu Kunci (*Kaempferia Pandurata*) dan Pengaruhnya Terhadap Ekspresi Gen *P53* Dan *Bcl-2* Pada Raji Cell Line

Peni Lestari¹, Endang Astuti¹, Deni Pranowo¹

¹Departemen Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Gadjah Mada, Sekip Utara, Yogyakarta 55281

Email : peni.lestarini@gmail.com

Received: November, 16, 2018/Accepted: June, 19, 2019

doi: 10.24252/al-kimia.v7i1.6340

Abstract: Cytotoxic activity of ethanol and n-hexane extract of temu kunci (*Kaempferia pandurata*) rhizome and its effect to *p53* and *bcl-2* genes expression on Raji cell line had been conducted. The rhizome of *K. pandurata* was drained and extracted using ethanol and n-hexane as the solvent. The ethanol and n-hexane extract were tested to Raji cell line. The *p53* and *bcl-2* genes expression were observed by immunocytochemistry method. The result showed that ethanol and n-hexane extract from *K. pandurata* had cytotoxic activity to Raji cell line. The IC₅₀ values for ethanol and n-hexane extract were 4.87 µg / mL and 4.14 µg / mL. The ethanol and n-hexane extract from *K. pandurata* extract had capability to increase *p53* gene expression and decrease *bcl-2* gene expression on Raji cell line.

Keywords: *Kaempferia pandurata* rhizome , *p53* dan *bcl-2* gene expression, *raji cell line*

1. PENDAHULUAN

Kanker merupakan suatu penyakit yang disebabkan oleh pertumbuhan sel tidak normal (tumbuh sangat cepat dan tidak terkendali) sehingga menekan jaringan lainnya dan mempengaruhi fungsi organ tubuh. Menurut Kementerian Kesehatan Republik Indonesia pada 2013, tercatat prevalensi penyakit kanker sudah mencapai 0,14% atau 347.792 orang dari total populasi penduduk. Pengobatan kanker secara kemoterapi dan sinar radiasi sering kali turut membunuh sel normal sehingga berpengaruh kurang baik terhadap penderita kanker. Berkaitan dengan hal tersebut, saat ini banyak dilakukan penelitian dan pengembangan obat antikanker yang berasal dari bahan alam (Dalimartha, 1999).

Temu kunci (*Kaempferia pandurata*) merupakan salah satu spesies dari familia *Zingiberaceae* yang memiliki aktivitas sebagai anti bakteri pada methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA), methicillin-resistant coagulase negative *Staphylococci* (MRCNS), methicillin-sensitive *Staphylococcus aureus* (MSSA), *Bacillus subtilis* dan *Salmonella typhi* (Sukandar dkk, 2014). Kirana dkk (2006) telah meneliti bahwa senyawa aktif yang diisolasi dari temu kunci yaitu panduratin A terbukti dapat menekan pertumbuhan sel kanker payudara MCF7 dan sel adenokarsinoma kolon HT-29 pada manusia melalui penghambatan COX-2. Seperti telah diketahui bahwa COX-2 merupakan faktor penting dalam perkembangan inflamasi dan sel tumor. Yun dkk (2006) menunjukkan bahwa Panduratin A berpotensi sebagai antikanker dengan mekanisme aksi menginduksi apoptosis pada sel kanker kolon HT29. Pada kanker kolon, panduratin A lebih berpotensi dibandingkan inhibitor selektif COX-2, misalnya Celecoxib dan

obat-obat antitumor (5-fluorouracil and Cisplatin). Panduratin A juga dapat memacu apoptosis sel melalui aktivasi caspase.

Perkembangan penyakit kanker berhubungan dengan kemampuan sel untuk melakukan apoptosis dan proliferasi. Apoptosis merupakan kematian sel terprogram (Campbell dkk, 2002). Gen pengatur apoptosis disebut gen penekan tumor (*tumor suppressor gen*), sedangkan proliferasi merupakan program pertambahan sel yang diatur oleh *onkogen*. Kanker terjadi karena tidak adanya keseimbangan antara laju pertambahan (proliferasi) sel dan laju kematian (apoptosis) sel (Underwood, 1999). Terhambatnya apoptosis terjadi akibat mutasi gen penekan tumor *p53* atau ekspresi abnormal gen anti apoptosis *bcl-2*. Gen penekan tumor *p53* berlokasi pada lengan pendek kromosom 17 (17p13) berukuran 20 kb yang tersusun dari 11 ekson dan 10 intron (Levine dkk., 1994). Menurut Vogelstein (1992), abnormalitas gen *p53* terjadi akibat hilangnya fungsi gen *p53* tipe *wild* dan hilangnya fungsi penahan siklus sel pada fase G1, sehingga mengakibatkan direplikasinya cetakan DNA yang rusak dan menghasilkan DNA yang mengalami mutasi.

Pada penelitian ini akan dilakukan uji aktivitas sitotoksik ekstrak etanol dan n-heksana rimpang temu kunci terhadap Raji *cell line*, serta analisis pengaruh kedua ekstrak tersebut terhadap ekspresi gen *p53* yang bertanggung jawab terhadap proses apoptosis dan ekspresi gen *bcl-2* yang bertanggung jawab terhadap proses proliferasi.

2. METODE PENELITIAN

Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah alat-alat gelas, satu set alat maserasi, lampu ultra-violet λ_{254} dan λ_{366} (Camac UV-Cabinet II), autoklaf, *Tissue culture flask* (Nunclon), tabung *conical* 15 mL dan 50 mL (Nunclon), mikropipet 1000 μ L, 250 μ L, 50 μ L (Gilson), *laminar air flow cabinet* (Gelman Science), mikroskop fase kontras (Olympus), inkubator sel (Heracell 37°C, 5% CO₂), sentrifus megafuge (*Fisher Scientific*, dan hemositometer (Neubauer, Germany).

Bahan

Bahan yang diperlukan dalam penelitian ini adalah rimpang temu kunci, bahan ekstraksi: etanol, n-heksana (Merck) dan kertas saring. Bahan uji sitotoksitas: Raji *cell line*, alkohol 70%, uji Imunositokimia: gelas obyek, gelas *deck*, aseton (Merck), hidrogen peroksida (Novo Castra), antibodi primer terhadap *p53* dan *bcl-2* (Lab Vision), PBS (*phospat buffer saline*) (Novo Castra), *Biotinylated Goat Anti-Polyvalent* (Lab Vision), streptavidin peroksidase (Lab Vision), kromogen DAB (3,3' diaminobenzidin) (Novo Castra), glyserine gelatin (Sigma), akuades dan hematoksin (Dako). Bahan identifikasi senyawa metabolit sekunder dalam rimpang temu kunci: logam magnesium (Merck), asam klorida pekat (Merck), asam sulfat pekat (Merck), petroleum eter (Merck), aluminium (III) klorida, asam asetat anhidrat (Merck), etanol (Merck), metanol (Merck), vanilin dan asam fosfat.

Prosedur Penelitian

Penyiapan bahan dan pembuatan ekstrak

Rimpang temu kunci dicuci dan dikeringkan, diblender kemudian dipotong dan dihaluskan dengan blender. Serbuk tersebut di oven pada suhu 40-42° C hingga kering. Serbuk rimpang temu kunci di ekstraksi secara maserasi dengan pelarut etanol selama 18 jam dengan perbandingan pelarut dan serbuk adalah 3:1. Pelarut etanol diuapkan menggunakan evaporator buchii kemudian dilanjutkan ekstraksi dengan pelarut n-heksana. Ekstrak etanol dan n-heksana ini digunakan untuk

uji sitotoksitas dan uji imunositokimia.

Uji sitotoksitas terhadap Raji *cell line*

Uji sitotoksitas dilakukan dalam plat 96 sumuran yang diinkubasi dalam aliran CO₂ 5%, 37°C selama 24 jam. Tiap sumuran dimasukan 100 µL suspensi Raji *cell line* dengan kepadatan 3 x 10⁴ sel/ 100 µL suspensi sel. Ditambahkan 100 µL sampel ekstrak etanol dan n-heksana dengan seri konsentrasi: 100; 50; 25; 12,5; 6,25; 3,12 µg/mL. Uji sitotoksitas juga dilakukan terhadap obat anti kanker yaitu tamoksifen dan 5-fluorourasil yang digunakan sebagai pembanding. Penghitungan sel dilakukan dengan pewarna biru tripan menggunakan hemositometer. Harga IC₅₀ ditentukan dengan menggunakan analisis probit. Untuk mengetahui perbedaan aktivitas sitotoksik ekstrak etanol, n-heksana dan obat antikanker terhadap Raji *cell line* dilakukan uji anova faktor tunggal.

Uji Imunositokimia terhadap Raji *cell line*

Uji imunositokimia dilakukan terhadap gen *p53* dan *bcl-2* pada Raji *cell line*. Ekspresi gen dapat diamati menggunakan mikroskop cahaya. Sel yang mengekspresikan gen akan memberikan warna coklat, sedangkan sel yang tidak mengekspresikan gen akan memberikan warna biru. Ekspresi gen dihitung dengan menggunakan persamaan:

$$\% \text{ ekspresi} = \frac{A}{A + B} \times 100\%$$

A = jumlah sel yang mengekspresikan gen *p53* atau *bcl-2*

B = jumlah sel yang tidak mengekspresikan gen *p53* atau *bcl-2*

Untuk mengetahui kemampuan mengekspresikan gen *p53* dan *bcl-2* antara kontrol, bahan uji dan obat antikanker maka dilakukan uji anova faktor tunggal.

Identifikasi golongan senyawa metabolit sekunder

Identifikasi golongan senyawa metabolit sekunder dalam ekstrak etanol dan n-heksana rimpang temu kunci dilakukan menggunakan reagen warna yang sesuai. Plat Kromatografi Lapis Tipis (KLT) ditetesi ekstrak kemudian dimasukan kedalam bejana pengembang yang telah diisi eluen dengan posisi miring. Plat KLT disemprot dengan reagen warna yang sesuai. Setelah kering perubahan warna diamati dengan lampu UV pada panjang gelombang 366 nm.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

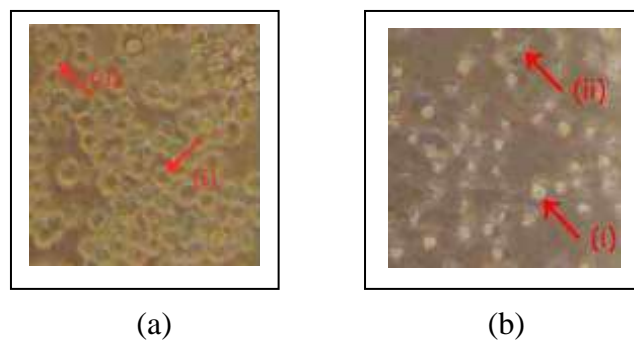
Penyiapan bahan dan pembuatan ekstrak

Rimpang temu kunci tidak dapat diekstraksi secara langsung tetapi harus dibersihkan dan dikeringkan terlebih dahulu untuk menghilangkan kadar airnya. Dari 100 g rimpang temu kunci diperoleh 35,4 g serbuk rimpang temu kunci. Ekstraksi senyawa metabolit sekunder dilakukan secara maserasi. Maserasi merupakan salah satu metode ekstraksi yang dilakukan melalui perendaman dan penggojokan serbuk bahan dalam larutan pengekstrak. Penggojokan bertujuan untuk melemahkan membran dan dinding sel sehingga zat-zat yang terkandung dalam bahan uji akan terlarut dalam pelarut. Penggojokan dilakukan secara berulang-ulang sehingga pelarut akan masuk secara berulang kedalam bahan uji dan mengoptimalkan pelarutan senyawa. Ekstraksi

menggunakan pelarut etanol akan memungkinkan senyawa polar dan non polar dari bahan uji terekstrak dalam pelarut. Fraksinasi senyawa yang terkandung dalam ekstrak etanol rimpang temu kunci dilakukan secara ekstraksi cair-cair dengan pelarut n-heksana. Senyawa yang bersifat non polar akan terekstrak pada pelarut n-heksana sedangkan senyawa polar akan tetap terekstrak pada

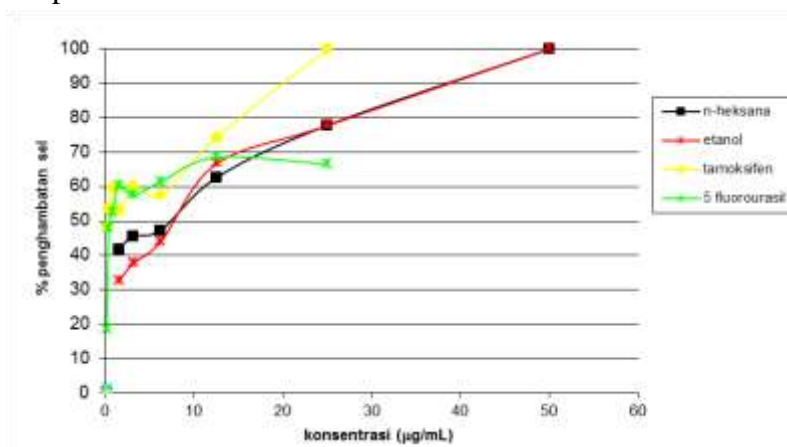
Uji sitotoksitas terhadap Raji *cell line*

Uji sitotoksitas terhadap Raji *cell line* dilakukan untuk mengetahui aktivitas sitotoksik ekstrak etanol dan n-heksana rimpang temu kunci. Uji sitotoksitas dilakukan menggunakan pewarna biru tripan yang ditambahkan kedalam kultur sel setelah diinkubasi pada aliran CO₂ 5%, 37°C selama 24 jam sehingga dengan pewarnaan tersebut dapat dibedakan sel hidup dan sel yang telah mati. Morfologi sel secara mikroskopik disajikan pada Gambar 1.



Gambar 1. Kultur Raji *cell line* setelah diinkubasi 24 jam dengan penambahan: (a) ekstrak etanol konsentrasi tertinggi, (b) ekstrak etanol konsentrasi terendah sel hidup (i), sel mati (ii)

Penentuan aktivitas sitotoksik dilakukan dengan penghitungan secara visual jumlah sel yang masih hidup menggunakan hemositometer setelah penambahan biru tripan. Penghitungan jumlah sel hidup pada masing-masing perlakuan digunakan untuk menentukan persentase penghambatan Raji *cell line*. Sebagai kontrol negatif digunakan kultur sel tanpa penambahan bahan uji dan sebagai pembanding digunakan obat antikanker (tamoksifen dan 5-fluorourasil). Persentase penghambatan Raji *cell line* karena pengaruh penambahan ekstrak etanol dan n-heksana rimpang temu kunci disajikan pada Gambar 2.



Gambar 2. Grafik persentase penghambatan Raji *cell line* dengan penambahan ekstrak etanol, n-heksana rimpang temu kunci dan obat anti kanker

Peningkatan konsentrasasi penambahan ekstrak etanol, n-heksana rimpang temu kunci dan obat anti kanker secara umum akan meningkatkan persentase penghambatan Raji *cell line*. Obat antikanker (tamoksifen dan 5-fluorourasil) mengakibatkan penghambatan sel yang lebih besar bila dibandingkan dengan ekstrak etanol dan n-heksana rimpang temu kunci sehingga dapat diketahui bahwa obat antikanker bersifat lebih toksik terhadap Raji *cell line* daripada ekstrak etanol dan n-heksana rimpang temu kunci. Berdasarkan data persentase penghambatan sel, aktivitas sitotoksik suatu bahan uji dapat dinyatakan dalam nilai IC_{50} . Nilai IC_{50} merupakan nilai konsentrasi yang menyebabkan penghambatan 50% spesies populasi yang sama pada kondisi percobaan yang sesuai, sehingga semakin kecil harga IC_{50} maka bahan uji tersebut bersifat semakin toksik. Nilai IC_{50} ekstrak etanol, n-heksana rimpang temu kunci dan obat antikanker disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1. Nilai IC_{50} ekstrak etanol, n-heksana rimpang temu kunci dan obat antikanker terhadap Raji *cell line*

Bahan uji	IC_{50} ($\mu\text{g/mL}$)
Ekstrak etanol	4,87
Ekstrak n-heksana	4,14
Tamoksifen	0,60
5-fluorourasil	1,19

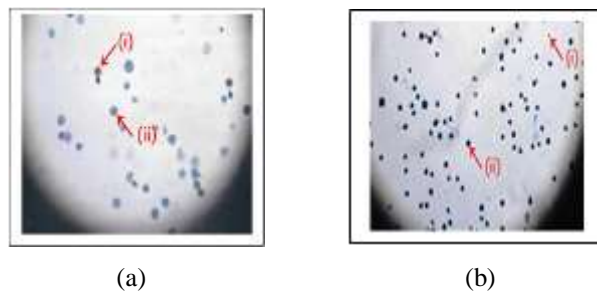
Berdasarkan nilai IC_{50} , ekstrak n-heksana rimpang temu kunci memiliki nilai yang lebih rendah dibandingkan ekstrak etanol rimpang temu kunci terhadap Raji *cell line*. Kriteria aktivitas sitotoksik untuk ekstrak kasar dari bahan alam terhadap sel kanker ditetapkan oleh American National Cancer Institute yang menyatakan bahwa suatu ekstrak kasar mempunyai aktivitas sitotoksik jika mempunyai harga $IC_{50} < 30 \mu\text{g/mL}$ (Suffness and Pezzuto, 1990). Berdasarkan kriteria tersebut, maka ekstrak etanol dan n-heksana rimpang temu kunci mempunyai aktivitas sitotoksik sebagai antikanker terhadap Raji *cell line*.

Obat antikanker umumnya mempunyai toksisitas yang lebih tinggi daripada obat dari ekstrak bahan alam, tetapi obat antikanker mempunyai efek samping yang merugikan bagi tubuh, misalnya: mual, muntah dan sebagainya. Tamoksifen dan 5-fluorourasil mengandung senyawa yang sudah terbukti mempunyai aktivitas sebagai antikanker, sedangkan ekstrak etanol dan n-heksana rimpang temu kunci masih mengandung senyawa campuran. Ekstrak tersebut terdapat senyawa yang bersifat toksik terhadap sel kanker, tetapi ada pula senyawa lain yang bersifat menetralkan toksisitas tersebut.

Uji Imunositokimia terhadap Raji *cell line*

Uji Imunositokimia dilakukan untuk mengetahui pengaruh ekstrak etanol dan n-heksana rimpang temu kunci serta tamoksifen terhadap ekspresi gen *p53* dan gen *bcl-2* pada Raji *cell line*, sehingga kajian tentang mekanisme aktivitas sitotoksik dapat dipelajari. Salah satu kemungkinan mekanisme yang terkait dengan penghambatan pertumbuhan sel adalah melalui regulasi siklus sel. Dengan demikian, pengamatan ekspresi gen *p53* dan *bcl-2* yang diduga penting dalam regulasi siklus sel dengan menggunakan metode imunositokimia. Morfologi sel hasil imunositokimia terhadap ekspresi gen *p53* dan gen *bcl-2* Raji *cell line* disajikan pada Gambar 3. Sel yang

mengekspresikan gen *p53* atau *bcl-2* berwarna coklat sedangkan sel yang tidak mengekspresikan gen *p53* atau *bcl-2* berwarna biru.



Gambar 3. Ekspresi gen *p53* pada Raji *cell line* dengan penambahan ekstrak n-heksana (a)
Ekspresi gen *bcl-2* pada Raji *cell line* dengan penambahan ekstrak n-heksana (b)

Ekspresi gen diamati menggunakan mikroskop dan dihitung persentase jumlah sel yang memberikan ekspresi positif, yaitu jumlah sel yang berwarna coklat terhadap total jumlah sel yang dihitung dikalikan 100%. Persentase ekspresi gen *p53* dan gen *bcl-2* pada Raji *cell line* dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Persentase ekspresi gen *p53* dan gen *bcl-2* terhadap Raji *cell line*

Perlakuan	Persentase ekspresi gen <i>p53</i> (%)	Persentase ekspresi gen <i>bcl-2</i> (%)
kontrol sehat	19,37	67,00
ekstrak n-heksana	60,82	30,13
ekstrak etanol	47,43	32,26
tamoksifen	61,17	12,79

Berdasarkan Tabel 2 terjadi peningkatan ekspresi gen *p53* pada Raji *cell line* yang diinkubasi dengan ekstrak etanol dan n-heksana rimpang temu kunci serta tamoksifen jika dibandingkan dengan kontrol sehat. Hasil uji ANOVA faktor tunggal menunjukkan bahwa sedikitnya satu diantara perlakuan tersebut terdapat perbedaan kemampuan dalam mengekspresikan gen *p53*. Kontrol sehat mempunyai kemampuan mengekspresikan gen *p53* paling rendah dan berbeda nyata jika dibandingkan dengan ekstrak n-heksana, ekstrak etanol rimpang temu kunci dan tamoksifen. Tamoksifen mempunyai kemampuan mengekspresikan gen *p53* paling tinggi dan berbeda nyata jika dibandingkan dengan kontrol sehat, tetapi tidak berbeda nyata dengan ekstrak n-heksana dan ekstrak etanol rimpang temu kunci.

Demikian halnya pada ekspresi gen *bcl-2*, terjadi penurunan ekspresi gen *bcl-2* pada Raji *cell line* yang diinkubasi dengan ekstrak etanol dan n-heksana rimpang temu kunci serta tamoksifen jika dibandingkan dengan kontrol sehat. Uji ANOVA faktor tunggal menunjukkan bahwa tamoksifen mempunyai kemampuan mengekspresikan gen *bcl-2* paling rendah dan berbeda nyata jika dibandingkan dengan kontrol sehat, tetapi tidak berbeda nyata dengan ekstrak n-heksana dan

ekstrak etanol rimpang temu kunci. Meskipun demikian, tidak terdapat pengaruh yang berbeda nyata antara ekstrak n-heksana dan ekstrak etanol rimpang temu kunci dalam mempengaruhi ekspresi gen *p53* dan gen *bcl-2* pada Raji *cell line*.

Gen *p53* dan *bcl-2* merupakan gen yang memiliki pengaruh cukup besar dalam perkembangan kanker. Gen *p53* berperan dalam menghentikan proliferasi sel yang rusak dan memacu apoptosis, sedangkan gen *bcl-2* berperan sebaliknya (Doyle dan Griffiths, 2000). Berdasarkan data peningkatan persentase ekspresi gen *p53*, maka mekanisme sitotoksik ekstrak etanol dan n-heksana rimpang temu kunci terhadap Raji *cell line* dimungkinkan terjadi melalui mekanisme perusakan DNA atau mekanisme lain yang belum diketahui. Kerusakan DNA akan menginduksi sel meningkatkan ekspresi gen *p53* untuk memperbaiki kerusakan DNA atau menginduksi apoptosis (Robbins dkk, 1999). Burkitt limfoma pada level molekuler dikarakterisasi dengan terjadinya peningkatan ekspresi gen *bcl-2* dan *c-myc*. Gen *c-myc* merupakan upregulasi dari gen *bcl-2*. Penurunan ekspresi gen *bcl-2* akan menyebabkan penurunan ekspresi gen *c-myc*. Protein E2F merupakan faktor transkripsi yang dapat memacu ekspresi gen *c-myc*. Penurunan ekspresi *c-myc* disebabkan karena tidak terjadi fosforilasi pRb sehingga E2F tidak dapat dibebaskan dan menjadi inaktif (Gregory dan Stephen, 2000). Oleh karena E2F inaktif maka E2F tidak mampu mengaktifkan gen-gen transkripsi yang mengatur siklus sel dari fase G1 ke fase S, sintesis DNA dan pembelahan sel. Dengan demikian siklus sel akan terhenti pada fase G1 dan proses pembelahan sel (proliferasi) menjadi terhenti (Lowe dkk, 2004).

Identifikasi golongan senyawa metabolit sekunder

Hasil identifikasi golongan senyawa metabolit sekunder menunjukkan bahwa ekstrak n-heksana rimpang temu kunci mengandung flavonoid sedangkan ekstrak etanol rimpang temu kunci mengandung triterpenoid dan flavonoid. Flavonoid pada ekstrak n-heksana rimpang temu kunci diperkirakan lebih banyak daripada flavonoid dan triterpenoid pada ekstrak etanol rimpang temu kunci. Hal ini mengakibatkan ekstrak n-heksana rimpang temu kunci memiliki aktivitas sitotoksik lebih tinggi dibandingkan ekstrak etanol rimpang temu kunci.

4. PENUTUP

Ekstrak etanol dan n-heksana rimpang temu kunci memiliki aktivitas sitotoksik terhadap Raji *cell line* dengan nilai IC_{50} masing-masing 4,87 $\mu\text{g/mL}$ dan 4,14 4,87 $\mu\text{g/mL}$. Kedua ekstrak tersebut juga berpengaruh terhadap peningkatan ekspresi gen *p53* dan penurunan ekspresi gen *bcl-2* pada Raji *cell line* sehingga dimungkinkan mekanisme sitotoksik ekstrak tersebut melalui mekanisme perusakan DNA atau mekanisme lain yang belum diketahui. Ekstrak n-heksana rimpang temu kunci mengandung flavonoid sedangkan ekstrak etanol rimpang temu kunci mengandung flavonoid dan triterpenoid. Meskipun demikian, perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengisolasi dan mengidentifikasi senyawa yang terdapat dalam ekstrak n-heksana rimpang temu kunci, sehingga diperoleh senyawa aktif yang berpotensi sebagai senyawa antikanker.

Ucapan Terima Kasih

Terima kasih penulis sampaikan kepada Jurusan Kimia FMIPA UGM dan LPPT UGM, atas dukungan fasilitas dan pendanaan penelitian.

DAFTAR PUSTAKA

- Campbell, N.A., Reece J.B. and Mitchell, L.G., 2002, *Biologi*, diterjemahkan oleh Rahayu Lestari, Jakarta, Erlangga.
- Dalimartha, S., 1999, *Ramuan Tradisional untuk Pengobatan Kanker*, Cetakan kedua, Penebar Swadaya, Jakarta.
- Doyle, A., dan Griffiths, J.B., 2000, *Cell and Tissue Culture for Medical Research*, New York, John Wiley&Sons Ltd.
- Gregory, M.A., dan Stephen, R.H., 2000, c-myc Proteolisis by Ubiquitin-Proteosome Pathway: Stabilization of c-myc in Burkitt's Lymphoma Cells, *Molecular and Cellular Biology*, 2423-2435.
- Kirana, C., Jones, G.P., Record, I.R., dan McIntosh, G.H., 2006, Anticancer Properties of Panduratin A Isolated from Boesenbergia Pandurata (Zingiberaceae), *Journal of Natural Medicine*, 61:131-137.
- Levine, A.J., Chong, A., dan Dittner, J., 1994, The *p53* Tumor Suppressor Genes, *J. Lab. Clin. Med*, 123:817-23.
- Lowe, S.W., Cepero, E. dan Evan, G., 2004, Intrinsic Tumour Suppression, *Nature*, Volume 432, 307-314.
- Robbins, S.L., Cotran, R.S. dan Kumar, V., 1999, *Dasar Patologi Penyakit*, diterjemahkan oleh Achmad Tjarta, Edisi ke lima, Jakarta, EGC.
- Suffness, M., dan Pezzuto, J.M., 1990, Assays Related to Cancer Drug Discovery, dalam: Itharat, A., Houghton, P.J., Eno-Amooquaye, E., Burke, P.J., Sampson, J.H. and Raman, A., In Vitro Cytotoxic Activity of Thai Medicinal Plants Used Traditionally to Treat Cancer, *J. of Ethnopharmacology*, 90, 33-38.
- Sukandar, E. Y., Sunderam, N., dan Fidrianni, I., 2014, Activity of *Kaempferia pandurata* (Roxb.) rhizome ethanol extract against MRSA, MRCNS, MSSA, *Bacillus subtilis* and *Salmonella typhi*, *Pak. J. Biol. Sci*, 17 (I): 49-55.
- Underwood, J.C.E., 1999, *Patologi Umum dan Sistemik*, diterjemahkan oleh Sarjadi, Jakarta, EGC.
- Vogelstein, B., dan Kinzler, K.W., 1992, P-53 function and Dysfunction, *Cell*, Vol 70, 523-26.
- Yun, J.M., Kweon, M.H., Kwon, H.J., Hwang, J.K., dan 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 Advance Access*, 27(7):1454-1464

