



EFEK HEPATOPROTEKTOR EKSTRAK ETANOL *CURCUMA LONGA* TERHADAP *CELL LINE HEPG2*

HEPATOPROTECTOR EFFECT OF CURCUMA LONGA ETHANOL EXTRACT ON CELL LINE HEPG2

Farhan Fauzan¹, Juniarti².

¹Faculty of Medicine YARSI University

²Department of Biochemistry, Faculty of Medicine YARSI
University

KATA KUNCI KEYWORDS

HepG₂, *Curcuma longa*, Hepatoprotektor
HepG₂, *Curcuma longa*, *Hepatoprotector*

ABSTRAK

Pendahuluan: Penyakit sirosis hati penyebab kematian ketiga di Indonesia dan ketujuh di dunia. Pengobatan alternatif maupun komplementer menggunakan tanaman kunyit perlu dibuktikan secara *in vitro*, *in vivo* dan klinis. Pada penelitian ini dilakukan uji *in vitro* efek hepatoprotektor ekstrak etanol rimpang kunyit menggunakan sel line HepG₂.

Metode: Dilakukan penelitian terhadap sel *line* HepG₂ yang sudah di induksi dengan hepatotoksin CCl₄ dan ditambah ekstrak etanol rimpang kuyit dengan dosis 250, 125, 62.5, 31, 16 dan 7.8 ppm, viabilitas sel di ukur dengan membandingkan kontrol terhadap perlakuan dengan ekstrak etanol rimpang kunyit untuk mengetahui toksisitas yang diukur dengan menggunakan *microplate reader*.

Hasil: Ekstrak etanol kunyit memiliki efek hepatoprotektor terhadap sel HepG₂. Dosis optimal ekstrak etanol kunyit untuk melindungi sel HepG₂ adalah 7,8 ppm. Spektrofotometer FTIR ekstrak etanol rimpang kunyit memiliki persamaan dengan hasil spektrofotometer FTIR curcumin.

ABSTRACT

Introduction: Liver cirrhosis disease is the third leading cause of death in Indonesia and to 7 in the world. Alternative and complementary remedies using turmeric plants need to be proven *in vitro*, *in vivo* and

clinically. In this research, in vitro test of hepatoprotector effect of ethanol extract of turmeric rhizome using cell line Hepg2.

Method: Cell line HepG2 was tested with hepatotoxin CCl₄ and added ethanol extract at doses 250, 125, 62.5, 31, 16 and 7.8 ppm, the viability of cells is measured by comparing the control to know toxicity and then measured by using microplate reader.

Result: The turmeric ethanol extract has a hepatoprotector effect on HepG2 cells. The optimal dose of turmeric ethanol extract to protect HepG2 cells is 7.8 ppm. Spectrophotometer FTIR ethanol extract of turmeric rhizome has similarities with the result of FTIR curcumin spectrophotometer.

PENDAHULUAN

Kunyit (*curcuma longa*) dikenal sebagai bahan pelengkap makanan yang memiliki cita rasa dan warna khas. Tidak hanya digunakan sebagai bumbu dapur, masyarakat juga sering memanfaatkan kunyit untuk mengatasi berbagai kondisi kesehatan seperti penyakit hati (*hepatocirrhosis*), *rheumatoid*, *atherosclerosis*, kanker dan berbagai macam penyakit infeksi lainnya. Kunyit memiliki beberapa kandungan zat kimia seperti kurkuminoid (sumber zat warna 3-5%) dan kurkurmin 60% (BPOM, 2012). Kandungan utama dari kunyit ini sudah digunakan sebagai obat di India dan Cina, karena memiliki efek sebagai antioksidan, anti-inflamasi, anti-kanker, antimikroba dan efek neuroprotektif di Asia Selatan. Beberapa formula pengobatan herbal menggunakan kurkumin untuk mengobati penyakit hati dapat meningkatkan kecepatan

proses penyembuhan, sehingga penelitian efektivitas kurkurmin sebagai hepatoprotektor masih terus berlanjut (Noorafshan, dkk., 2013).

Hati atau disebut juga dengan istilah hepar, merupakan salah satu organ vital pada manusia yang memiliki berbagai macam fungsi seperti metabolisme, sekresi, penyimpanan dan ekskresi berbagai macam komponen endogen maupun eksogen. Hati juga memiliki kapasitas yang besar untuk melakukan detoksifikasi dan menyintesis zat-zat yang berguna bagi tubuh. Karena peran pentingnya di dalam tubuh, menjadikan hati sebagai organ paling esensial. Cedera pada hati bisa menyebabkan kematian hepatosit yang ditandai dengan kenaikan serum transaminase sebanyak tiga kali dibanding keadaan normal (Moron, dll., 2009)

Salah satu penyakit hati yang paling sering menyebabkan kematian adalah sirosis hati. Di Indonesia sirosis hati merupakan penyebab kematian ke-3 pada penderita yang berusia 45-46 tahun (setelah penyakit kardiovaskuler dan kanker). Di dunia sirosis hati menempati peringkat ke-7 penyebab kematian untuk itu diperlukan suatu obat yang aman, efektif dengan harga yang relatif terjangkau untuk menangani hal tersebut (Nurdjanah, 2009).

Ekstrak etanol kunyit mengandung kurkuminoid yang terdiri dari kurkumin I, kurkumin II (*demetoxycurcumin*) dan kurkumin III (*bisdemetok-sicurcumin*) serta minyak atsiri. Kurang lebih 25 senyawa minyak atsiri yang telah ditemukan dalam ekstrak kunyit. Terdapat variasi kuantitatif dari masing-masing komponen kimiawi minyak atsiri tergantung dari tempat tumbuh tanaman kunyit (Jayaprakasha dkk., 2005). Dalam bentuk murni, kurkumin memiliki daya larut air yang sangat rendah, sehingga kegunaannya sebagai obat oral menjadi terbatas. Dalam sebuah penelitian yang membandingkan efek antiangiogenik kurkumin dalam bentuk murni dengan kurkumin dalam bentuk ekstrak, ditemukan bahwa kurkumin dalam ekstrak kunyit memiliki efek antiangiogenik lima kali lebih tinggi daripada kurkumin murni. Hal ini dikarenakan adanya komponen derivatif kurkumin

lainnya serta komponen-komponen lainnya yang terkandung dalam ekstrak kunyit. Dilaporkan dalam penelitian ini, ditemukan potensi ekstrak kunyit secara farmakologis dibandingkan dengan kurkumin murni (Liu, 2008).

Berlatar belakang dari literatur di atas, maka dilakukan penelitian untuk membuktikan aktivitas ekstrak etanol rimpang kunyit sebagai hepatoprotektor secara *in vitro* pada *cell line* HepG2 terhadap toksisitas karbon tetra klorida (CCl₄).

METODE

Penelitian ini menggunakan metode eksperimental terhadap sampel yang telah ditentukan yaitu *cell line* HepG2 yang diinduksi oleh CCl₄ yang kemudian di uji dengan pemberian ekstrak etanol kasar rimpang kunyit.

Langkah pertama yang dilakukan adalah pembuatan ekstrak etanol, lima puluh kilogram kunyit dibersihkan dengan air, dipotong-potong dan dikeringanginkan selama satu minggu. Sampel kemudian dikeringkan kembali dengan oven pada suhu 50°C selama 6 jam. Kemudian kunyit yang sudah kering ini dirajang halus dan diblender. Sampel kemudian di ekstrak dengan cara maserasi menggunakan etanol. Hasil maserasi disaring dan kemudian dikentalkan dengan *rotary*

evaporator. Ekstrak etanol yang dihasilkan kemudian dikeringkan dalam oven sampai berat ekstrak tidak berubah lagi.

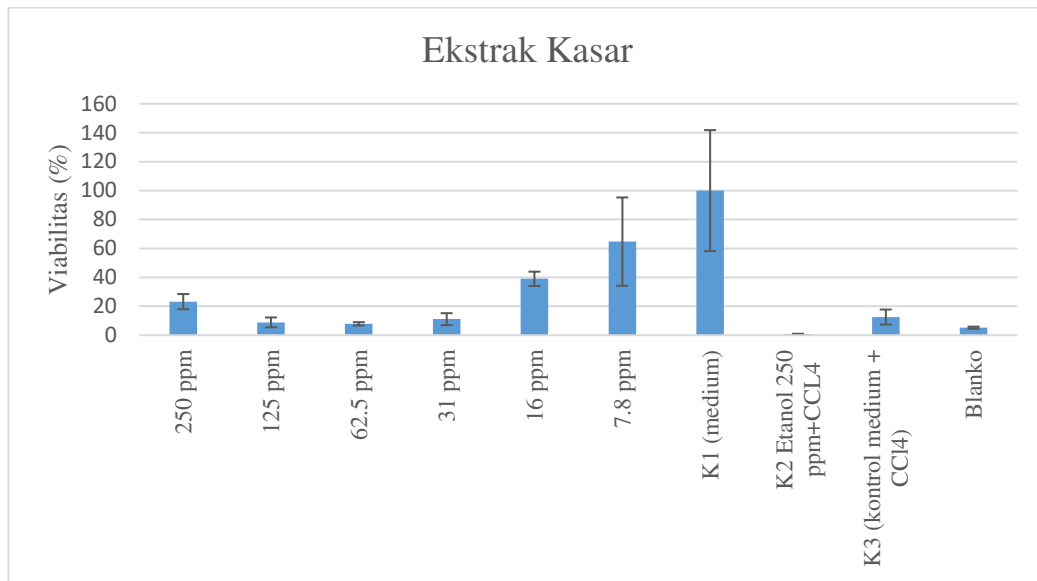
Setelah ekstrak kunyit sudah jadi, langkah berikutnya adalah membuat kultur *cell line* HepG2. Sel HepG2 termasuk sel epitelial dengan sistem kultur adherent berbentuk monolayer. Pasasi optimal untuk eksperimen adalah di bawah 15-20 setelah *thawing*. Vakuolisasi cenderung terjadi pada pasasi tinggi (15-20). Sistem kultur menggunakan serum FBS dengan konsentrasi 5-10 persen pada medium rendah glukosa. Suplemen tambahan yang umum digunakan adalah L-glutamin dan NEAA. Medium basal yang sering digunakan adalah DMEM, EMEM dan Alfa MEM. Tripsinisasi sebaiknya tidak lebih dari 5 menit. Perhatian lebih diberikan pada proses mengurangi *clumping* pada suspensi sel dengan cara *up-down pipetting* pada proses tripsinisasi dan resuspensi pellet yang dihasilkan. Penyimpanan menggunakan kriomedium standar dengan tehnik *slow-freeze* pada uap atau terendam dalam nitrogen cair.

Setelah sel dikultur lalu Sel HepG2 ditanam yang dalam fase eksponensial sebanyak 50.000 sel/wel pada pelat kultur 96 *well* dengan medium DMEM, 5% FBS, 0,1 mM NEAA dan 2 mM L-Glutamin (medium komplit). Kultur diinkubasi selama 24 jam, selanjutnya *well* dibilas dengan

PBS dan diganti dengan medium komplit minus FBS untuk perlakuan bahan uji. Sel diinkubasi sel dengan bahan uji selama 20 jam lalu bilas dengan PBS dan ganti dengan medium komplit mengandung CCl₄ 1%. Diinkubasi selama 4 jam lalu bilas dengan PBS ukur viabilitas sel dengan WST-1. Ditambahkan 10% WST pada PBS hingga total volume 100 ul per *well*. Diinkubasi selama 60 menit dan diukur absorbansi pada *microplate reader* pada panjang gelombang 450 nm. Sitoproteksi adalah viabilitas sel yang diperlakukan dengan bahan uji dan toksin-viabilitas sel yang hanya diperlakukan dengan toksin.

HASIL

Pada penelitian ini dilakukan uji *in vitro* untuk melihat aktivitas hepatoprotektor dari ekstrak etanol rimpang kunyit. Penelitian dilakukan pada 10 kelompok perlakuan yaitu: kontrol negatif tanpa perlakuan (DMEM+HepG2), kontrol pelarut (etanol+HepG2+CCl₄), kontrol negatif dengan perlakuan (DMEM+HepG2+CCl₄), blangko, ekstrak etanol kunyit dengan dosis masing-masing 250, 125, 62.5, 31, 16 dan 7.8 ppm. Masing-masing perlakuan dikerjakan sebanyak tiga kali pengulangan untuk mengamati adanya efek hepatoprotektor ekstrak etanol rimpang kunyit terhadap *cell line* HepG2. Hasil uji *in vitro* disajikan pada Gambar1.



Gambar 1. Hepatoproteksi Ekstrak Etanol Kunyit pada HepG2 terhadap CCL₄

Pada gambar 1. dapat disimpulkan bahwa dosis toksik ekstrak etanol kunyit terhadap *Cell line* HepG2 di mulai dari dosis 31 ppm (11,11% ± 4,12%), pada dosis 16 (39,01% ± 4,93%) dan 7.8 ppm (64,69136% ± 30,56248%)

ekstrak kunyit mampu menghambat kerusakan sel yang di induksi dengan CCl₄, namun dosis 7.8 ppm adalah dosis terbaik untuk mempertahankan viabilitas sel karena hampir setara dengan kontrol negatif.

Tabel 1. Signifikansi Ekstrak Etanol Kunyit dengan T-Test

Hasil	Signifikansi (Nilai p)
kontrol medium + CCl ₄ vs 250 ppm	0,080363
kontrol medium + CCl ₄ vs 125 ppm	0,069136
kontrol medium + CCl ₄ vs 62.5ppm	0,131051
kontrol medium + CCl ₄ vs 31 ppm	0,112702
kontrol medium + CCl ₄ vs 16 ppm	0,022759
kontrol medium + CCl ₄ vs 7.8 ppm	0,053802

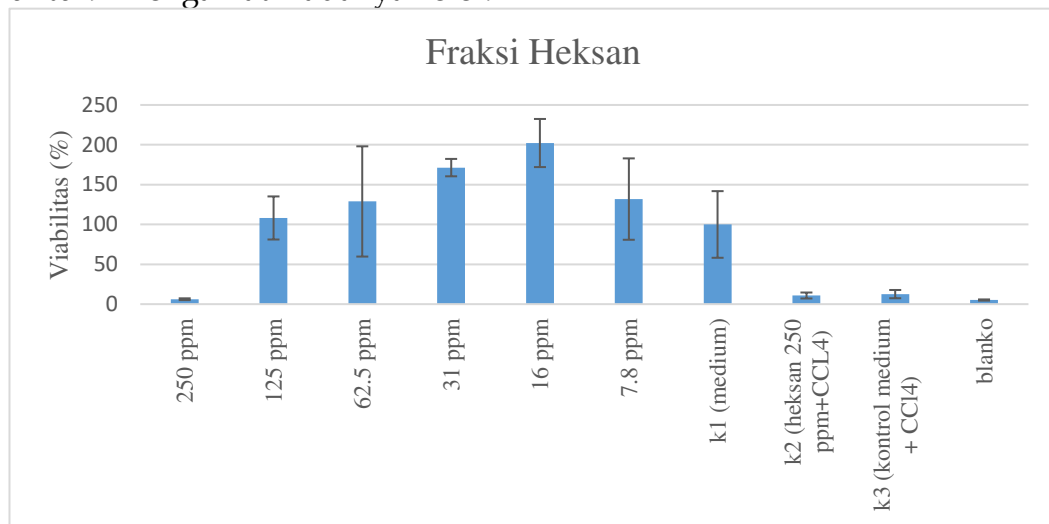
Dari tabel 1. Dapat disimpulkan bahwa, pada dosis 16 ppm memiliki efek hepatoprotektor dalam sel HepG2 secara signifikan (P < 0.05).

Fraksi heksan rimpang kunyit digunakan sebagai pem-

banding, dan diperlakukan sama yaitu dengan dosis masing-masing 250, 125, 62.5, 31, 16 dan 7.8 ppm, dengan 4 kontrol yaitu kontrol negatif tanpa perlakuan (DMEM+HepG2), kontrol pelarut (heksan+HepG2+CCl₄), kontrol negatif dengan perlakuan

(DMEM+HepG2+CCl₄) dan blanko, masing-masing diujikan dengan tiga kali pengulangan untuk mengamati adanya efek

hepatoprotektor kunyit pada sel hati. Hasil uji in vitro disajikan pada gambar 2 dan tabel 2.



Gambar 2. Hepatoproteksi Fraksi Heksan Kunyit pada HepG2 terhadap CCl₄

Pada Gambar 2 dapat disimpulkan bahwa dosis toksik fraksi heksan kunyit terhadap *Cell line* HepG2 dimulai dari 250 ppm (6,17284% ± 1,1315%), pada dosis 16 (202,22% ± 30,20%) dan 31 ppm (171,35% ± 10,92%) ekstrak kunyit

mampu menghambat kerusakan sel yang di induksi dengan CCl₄, namun dosis 16 ppm adalah dosis terbaik untuk mempertahankan viabilitas sel karena melebihi kontrol negatif.

Tabel 2. Signifikansi Fraksi Heksan Kunyit dengan T-Test

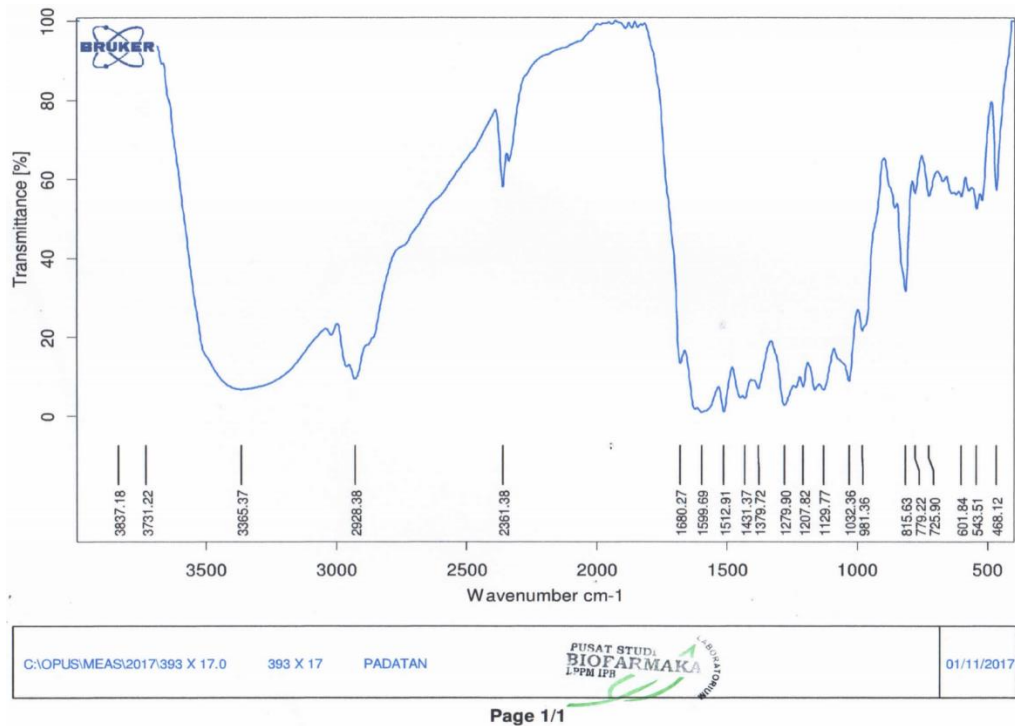
Hasil	Signifikansi (Nilai p)
kontrol medium + CCl ₄ vs 250	0,056187
kontrol medium + CCl ₄ vs 125	0,008806
kontrol medium + CCl ₄ vs 62.5	0,052281
kontrol medium + CCl ₄ vs 31	0,000262
kontrol medium + CCl ₄ vs 16	0,005237
kontrol medium + CCl ₄ vs 7.8	0,031351

Dari tabel 2. Dapat disimpulkan bahwa, pada dosis 31 ppm memiliki efek hepatoprotektor

dalam sel HepG2 secara signifikan (P < 0.05).

Spektrofotometer FTIR digunakan untuk mengetahui apakah di dalam ekstrak etanol rimpang kunyit terdapat kan-

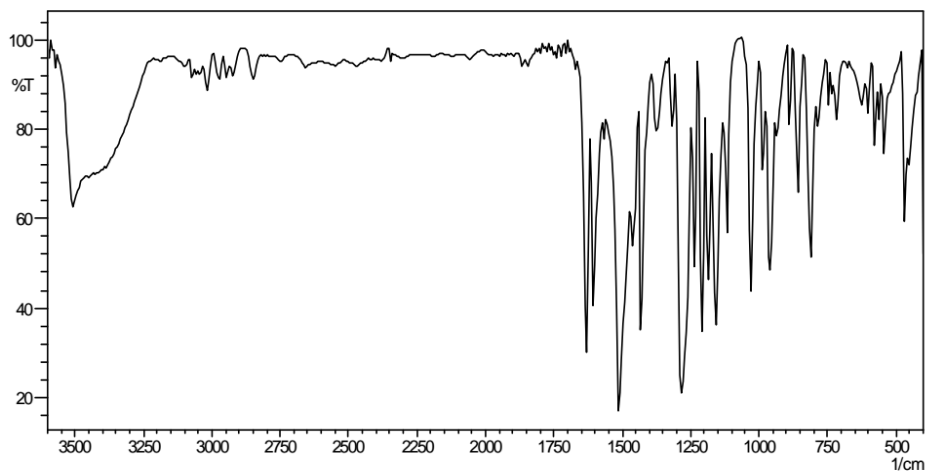
dungan kurkumin atau tidak. Pada penelitian ini didapatkan spektrum FTIR seperti ditampikan pada Gambar 3.



Gambar 3. Spektrum FTIR Ekstrak Etanol Rimpang Kunyit

Hasil FTIR tersebut memiliki kesamaan dengan hasil FTIR yang dilakukan oleh Subhan

dkk. (2014) (Gambar 4) yang dapat di lihat dari kesamaan pola dan peak yang di dapat.



Gambar 4. FTIR Kurkumin (Subhan dkk., 2014)

PEMBAHASAN

Untuk mengetahui ada tidaknya efek hepatoprotektor ekstrak etanol *curcuma longa* pada sel hati, maka dilakukan percobaan menggunakan *cell line* HepG2 secara *in vitro*.

Kandungan kurkumin dari kunyit ini memiliki peran aktif efek sebagai antioksidan, anti-inflamasi, antikanker dan sebagai hepatoprotektor (Noorafshan, dkk., 2013)

Dari hasil penelitian menggunakan ekstrak kasar kunyit terlihat bahwa dosis toksik terhadap *cell line* HepG2 dimulai dari dosis 31 ppm. Untuk melihat efek hepatoproteksi, dosis terbaik diberikan oleh dosis 7,8 ppm dan disusul oleh dosis 16 ppm dengan viabilitas masing-masing 8,73% dan 5,26% secara berturut-turut. Penelitian ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Kusuma (2012) yang mendukung aktifitas hepatoprotektor kunyit dimana kunyit dapat menghambat kerusakan sel hati.

Penelitian ini menunjukkan hasil bahwa ekstrak etanol rimpang kunyit mempunyai efek hepatoprotektor terhadap *cell line* HepG2 secara *in vitro*. Hal ini disebabkan oleh adanya kandungan senyawa-senyawa metabolit sekunder yang terdapat dalam ekstrak rimpang kunyit, diantaranya kurkumin, secara *turmerone* yang terdapat dalam ekstrak kunyit meningkatkan transport kurkumin ke dalam sel-sel intestin secara signifikan

sehingga absorpsi kurkumin meningkat secara signifikan. *Turmerone* bersifat lipofilik sehingga dapat mempengaruhi absorpsi kurkumin (Yue, dkk., 2012).

Salah satu kandungan utama rimpang kunyit yang paling banyak dilaporkan adalah kurkumin. Kurkumin dilaporkan mempunyai berbagai macam aktivitas seperti sebagai antioksidan, anti-inflamasi, antikanker, antimikroba dan efek neuroprotektif. Salah satu aktivitas yang paling menonjol adalah sebagai hepatoprotektor (Noorafshan, dkk., 2013).

Penelitian yang dilakukan oleh Subash, dkk., (2013) secara *in vivo* terhadap hati tikus yang di induksi dengan CCL₄, menyatakan bahwa kurkumin memiliki efek hepatoprotektor, karena dapat mencegah kerusakan hati yang hasilnya dapat dilihat dari penurunan kadar serum hati dan kadar kolesterol di dalam darah.

SIMPULAN

Ekstrak etanol rimpang kunyit memiliki efek hepatoprotektor terhadap sel HepG2, untuk dosis optimal ekstrak etanol rimpang kunyit dalam melindungi sel HepG2 adalah 7.8 ppm. Spektrofotometer FTIR ekstrak etanol rimpang kunyit memiliki kemiripan dengan hasil spektrofotometer FTIR kurkumin.

DAFTAR PUSTAKA

- Ali Noorafshan and Soheil Ashkani-Esfahani. 2013. A Review of Therapeutic Effects of Curcumin. *Current Pharmaceutical Design*. 19: 2032-2046
- Badan POM RI, 2012. *Acuan Sediaan Herbal*. Volume 7 edisi I. BP POM
- Chen Xg, Liu CS, Liu CG, Meng XH, LI CM, Park JH. 2006. Preparation and biocompatibility of chitosan microcarriers as biomaterial. *Biochemical Engineering Journal*. 27 : 269-274
- Estefania Burgos-Moron, Jose Manuel Calderon-Montano, Javier Salvador, Antonio Robles and Miguel Lopez-Lazaro. 2010. The dark side of curcumin. *Int. J. Cancer*. 126: 1771-1775
- Jayaprakasha, G.K., Rao, L.J., Sakariah, K.K. 2005. Chemistry and biological activities of C . Longa. *Tin F Scien & Tech*. 16: 533-548.
- Nurdjanah, S., Sirosis Hati dalam A.W. Sudoyo, B. Setyohadi, I. Alwi, M. Simadibrata, S. Setiati (edts). 2009. *Buku Ajar Ilmu Penyakit Dalam*, Jilid 1, 443-446
- Yue, G.G., Cheng, S.W., Yu, H., Xu, Z.S., Lee, J.K., Hon, P.M., Lee, M.Y., Kennelly, E.J., Deng, G., Yeung, S.K., Cassileth, B.R., Fung, K.P., Leung P.C., Lau, C.B. 2012. The role of turmerones on curcumin transportation and P-glycoprotein activities in intestinal Caco-2 cells. *J Med Food*. 15(3): 242-52.
- M. A. Subhan, K. Alam, M. S. Rahaman, M. A. Rahman, and M. R. Awal. 2014. Synthesis and Characterization of Metal Complexes Containing Curcumin (C₂₁H₂₀O₆) and Study of their Anti-microbial Activities and DNA Binding Properties. *J. Sci. Res*. 6 (1): 97-109