

AKTIVITAS ANTIPROLIFERASI EKSTRAK, FRAKSI ETIL ASETAT DAN ISOLAT RIMPANG TEMULAWAK (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.) TERHADAP SEL KANKER PAYUDARA T47D

Musfiroh, I.¹, Udin. L.Z.², Diantini, A.¹, Levita, J.¹, Mustarichie, R.¹, dan Muchtaridi¹

¹Fakultas Farmasi, Universitas Padjadjaran

²Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI), Laboratorium Bio Assay, Bandung
E-mail: idamusfiroh@yahoo.com

ABSTRAK

Peran Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.) sebagai anti kanker diungkapkan pada penelitian yang dilakukan pada sel kanker payudara T47D dengan menggunakan metode *Sulforhodamine B* (SRB). Pengamatan dilakukan berdasarkan uji aktivitas antiproliferasi ekstrak metanol, fraksi etil asetat dan Isolat temulawak (CXA). Isolate CXA - berupa cairan minyak, diidentifikasi dengan metode spektrofotometri ultra violet, infra merah, dan massa. Spektrum ultra violet CXA menunjukkan panjang gelombang maksimum pada 213.0 nm dan spektrum inframerah menunjukan adanya gugus -CH aromatik, -CH alifatik, -CH geminal dan C=C. Sedang spektrum massa memberikan m/z 202 [M⁺], 202, 187, 171, 159, 145, 132, 119, 105, 91, 69, 55, 41 dengan puncak dasar (*base peak*) 119. Hasil pengujian toksisitas terhadap sel kanker T47D menunjukkan bahwa IC₅₀ ekstrak metanol, etil asetat, dan isolat (CXA) masing-masing adalah 19,15 µg/mL, 17,07 µg/mL, dan 19,22 µg/mL.

Kata kunci: antiproliferasi, sel kanker payudara T47D, *Curcuma xanthorrhiza*, metode SRB.

ANTIPROLIFERATION ACTIVITY OF EXTRACT, ETHYL ACETATE FRACTION AND ISOLATE FROM TURMERIC (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.) RHIZOME AGAINST BREAST CANCER CELL T47D

ABSTRACT

The role of turmeric (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.) as anti-cancer, revealed in a research carried out on T49D breast cancer cell lines using *Sulforhodamine B* (SRB) method. Observation based on anti-proliferation activity assay on methanol extract, ethyl acetate fraction of tumeric and its turmeric isolate (CXA). The isolate (CXA) - yellow liquid oil, was identified by ultra violet, infrared, and mass spectro-photometric methods. Both the ultra violet and infra red spectrums of CXA showed maximum wavelength of 213.0 nm and -CH aromatic, -CH aliphatic, -CH germinal and C=C function groups. While the mass spectrum showed m/z: 202 [M⁺], 202, 187, 171, 159, 145, 132, 119, 105, 91, 69, 55, 41 with a base peak at 119. CXA was assumed to be a sesquiterpene, i.e., ar-curcumen. The results indicated that IC₅₀ of methanol extract, ethyl acetate fraction, and isolate (CXA) were 19.15µg/mL, 17.07µg/mL, and 19.22µg/mL, respectively.

Key words: anti proliferation, breast cancer cell T47D, *Curcuma xanthorrhiza*, SRB method

PENDAHULUAN

Kanker payudara merupakan penyakit yang banyak menyerang wanita Indonesia dan menduduki peringkat kedua setelah kanker leher rahim. Kanker payudara merupakan salah satu kanker yang harus diwaspadai. Menurut WHO, sebanyak 8 sampai 9% wanita akan mengalami kanker payudara dalam hidupnya. Prevalensi kanker payudara saat ini adalah 876.665 wanita dan menurut WHO kanker payudara me-

nyebabkan kematian pada 5.000.000 setiap tahunnya. Kanker payudara menjadi penyebab utama kematian pada wanita di berbagai belahan dunia (Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 2008).

Salah satu pengobatan yang dapat dilakukan diantaranya adalah kemoterapi, yaitu pemberian obat-obat yang dapat menekan pertumbuhan atau proliferasi sel dan menimbulkan toksisitas pada sel kanker. Dalam kemoterapi biasanya pasien diberikan dua atau lebih obat antikanker dengan

tujuan mendapatkan efek sinergis tanpa menambah toksisitas. Akan tetapi pada kenyataannya pengobatan dengan kemoterapi dapat menyebabkan kerusakan pada jaringan dengan laju proliferasi tinggi dan mengakibatkan penurunan jumlah eritrosit, anoreksia, diare dan kerusakan hati (Nafrialdi & Gan, 2005). Karena besarnya efek samping yang diberikan oleh pengobatan kanker, seperti kemoterapi, maka perlu dilakukan suatu upaya pencarian obat kanker yang selektif menggunakan bahan alam. Banyak bahan alam yang secara empiris telah terbukti berkhasiat sebagai antikanker. Tujuan penggunaan bahan alam umumnya adalah memperpanjang usia harapan hidup dan mengatasi kegagalan penggunaan obat modern dalam mengobati penyakit tertentu, diantaranya penyakit kanker (Sari, 2006). Berdasarkan penelitian klinis, temulawak diketahui dapat mengobati kanker payudara (Chun, 2003).

Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb), salah satu familia *Zingiberaceae*, merupakan tanaman asli Indonesia yang merupakan salah satu dari tanaman obat unggulan nasional BPOM dan berkhasiat untuk menjaga kesehatan. Tanaman temulawak secara empirik banyak digunakan sebagai obat dalam bentuk tunggal maupun campuran untuk mengatasi gangguan-gangguan saluran cerna, gangguan aliran getah empedu, sembelit, radang rahim, kencing nanah, kurang nafsu makan, radang lambung, cacar air, dan terdapat beberapa penelitian yang melaporkan bahwa temulawak memiliki aktivitas antitumor, anti kanker dan hepatoprotektif (Sidik, dkk., 1992; Bejawan *et al.*, 2003).

Berdasarkan penelitian-penelitian sebelumnya, diketahui bahwa xanthorrhizol yang terkandung dalam rimpang temulawak secara bermakna mampu menghambat pembelahan sel-sel tumor serta menghambat pembentukan jaringan kista di paru-paru dan jaringan perut, serta memiliki aktivitas antiproliferasi terhadap sel kanker payudara MCF-7 (Choi *et al.*, 2005; Cheah *et al.*, 2006). Selain xanthorrhizol terdapat senyawa lain dalam temulawak yang juga memiliki aktivitas antitumor, seperti α -kurkumen, ar-turmeron dan β -atlanton

(Hideji, 1985). Kurkumin, salah satu komponen temulawak, telah diteliti dapat menghambat pertumbuhan sel kanker, seperti kanker kulit dan kanker payudara (Chun, 2003).

Salah satu pengujian aktivitas anti-proliferasi yang dapat digunakan adalah metode Sulforhodamine B (SRB). SRB merupakan metode yang digunakan untuk mengukur protein yang melekat pada suatu sel. Pembacaan absorbansi dari protein sel yang terwarnai menggunakan ELISA *plate reader*. Metode ini memiliki beberapa keunggulan, diantaranya memiliki titik akhir pewarnaan yang jelas, stabil, dapat dilihat dengan mata telanjang dan sensitif untuk mengukur aktivitas sitotoksik suatu obat.

Berdasarkan latar belakang yang dikemukakan dalam penelitian ini, telah dilakukan pengujian aktivitas antiproliferasi ekstrak, fraksi etil asetat, dan isolat rimpang temulawak secara *in vitro* terhadap sel kanker payudara T47D dengan metode SRB. Hasil penelitian ini diharapkan dapat dijadikan data pendukung dalam pengembangan kearah obat herbal terstandar, fitofarmaka serta dalam pencarian obat anti-kanker yang selektif.

BAHAN DAN METODE

Bahan Tumbuhan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah simplisia rimpang temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb) yang diperoleh dari Kebun Tanaman Obat dan Aromatik Manoko, Lembang, Bandung.

Bahan Kimia

Bahan kimia yang digunakan dalam penelitian ini adalah metanol, pereaksi-pereaksi yang digunakan dalam penampisan fitokimia, larutan vanillin sulfat 10%, *n*-heksan, toluen, etil asetat, aqua distilata, aqua bidistilata, silika gel 60 H (Merck), plat silika gel GF₂₅₄, sel kanker payudara (T47D), Dulbecco Modified Eagle's Medium (DMEM), larutan buffer salin, cisplatin (SIGMATM), larutan asam trikloroasetat (TCA) 50%, larutan pewarna Sulforhodamine-B (SRB), asam asetat 1 %, larutan dimetil sulfoksida (DMSO) 100%,

DMSO 10% dalam larutan buffer salin, dan larutan tripsin-EDTA.

Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah penggiling simplisia, maserator, *rotary evaporator* (Buchi Rotavapor R-3000), plat silika gel GF₂₅₄ (MERCK), plat kromatografi lapis tipis preparatif silika gel 60 (Merck), kolom kromatografi, pompa vakum, lampu UV (Camag UV-Betrachter), spektrofotometer UV (Specord 200 Analytic Jena), spektrofotometer inframerah (IR Prestige-21, Shimadzu), spektrometer massa (QP-500 Shimadzu), tangki pengembangan beserta penutupnya, inkubator CO₂ (Napco), mikroskop (Olympus CKX 41), *hemocytometer*, sentrifugator (Eppendorf Centrifuge 5804R), mikro pipet (Weaton), *shaker-incubator* (Certomat BS-1), ELISA *plate reader*.

Determinasi Tanaman Temulawak

Tanaman dideterminasi di Herbarium Jatinangor Laboratorium Taksonomi Tumbuhan, Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Padjadjaran.

Ekstraksi Rimpang Temulawak dan Isolasi

Serbuk rimpang temu lawak (5945 g) dimasukkan ke dalam maserator yang pada bagian bawahnya telah dilapisi dengan kapas, kemudian ditambahkan pelarut metanol secukupnya dan dibiarkan kira-kira 10 menit agar proses pembasahan simplisia berlangsung, kemudian ditambahkan pelarut metanol sampai seluruh serbuk terendam. Proses maserasi tersebut dilakukan selama 3 x 24 jam sambil sesekali diaduk-aduk. Setiap 24 jam ekstrak ditampung dan pelarut diganti dengan yang baru. Ekstrak yang diperoleh dipekatkan dengan penguap vakum putar pada suhu 40-50 °C dan kecepatan putar 80 rpm, lalu diuapkan di atas penangas air pada suhu 40 °C sampai berat ekstrak konstan. Ekstrak kental yang diperoleh difraksionasi dengan cara partisi menggunakan campuran air-etil asetat (1:1) hingga diperoleh fraksi air dan fraksi etilasetat. Setelah itu dilakukan isolasi

senyawa aktif dari fraksi etil asetat dengan metode kromatografi cair vakum (KCV) menggunakan fase diam silika gel 60 H (Merck), fase gerak *n*-heksan-etil asetat dengan kepolaran yang bertambah secara bergradien, dilanjutkan dengan metode kromatografi lapis tipis (KLT) preparatif menggunakan fase diam silika gel 60 (Merck) dan larutan pengembang toluen-etil asetat (99:1). Uji kemurnian isolat dilakukan dengan analisis KLT, menggunakan fase diam silika gel GF₂₅₄, fase gerak toluen-etil asetat (99:1), dan KLT dua arah menggunakan dua fase gerak yang berbeda, yaitu toluen-etil asetat (99:1) dan *n*-heksan-etil asetat (6:4).

Penapisan Fitokimia

Penapisan fitokimia dilakukan terhadap simplisia, ekstrak metanol, dan fraksi etilasetat dengan menggunakan metode Farnsworth (1966).

Identifikasi Isolat Rimpang Temulawak

Identifikasi isolat rimpang temulawak dilakukan dengan metode spektrometri ultraviolet, inframerah, dan massa.

Uji Aktivitas Antiproliferasi

Pengujian aktivitas antiprolifesi sel kanker dilakukan dengan metode Sulforhodamine B (SRB) dengan cara mengukur protein pada sel menggunakan *ELISA plate reader*. Kultur sel difiksasi dengan *trichloroacetic acid* (TCA) yang kemudian diwarnai dengan 0.4% SRB yang dilarutkan dalam 1% asam asetat. Protein sel yang tidak terwarnai dibilas dengan 1% asam asetat sebanyak empat kali dan protein sel yang terwarnai dilarutkan dengan *Tris base* untuk menentukan *Optical Density* menggunakan *ELISA plate reader*. Dari pengujian ini dapat dihitung persentase sel yang bertahan hidup dan nilai IC₅₀, yaitu konsentrasi ekstrak, fraksi etilasetat dan isolat rimpang temulawak yang diperlukan untuk membunuh 50% sel kanker payudara T47D.

Analisis Data

Data aktivitas antiproliferasi dianalisis dengan menggunakan uji ANAVA satu arah ($\alpha=0.05$) dengan program SPSS 14.0. Ana-

lisis dilakukan terhadap persentase sel yang bertahan hidup nilai IC_{50} ekstrak, fraksi etilasetat dan isolat rimpang temulawak.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Determinasi Tanaman Temulawak

Hasil determinasi menunjukkan bahwa tanaman yang digunakan pada penelitian ini adalah temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb), familia Zingiberaceae.

Hasil Ekstraksi dan Isolasi

Dari hasil ekstraksi dan fraksinasi diperoleh ekstrak metanol kental sebanyak 0,902 g (rendemen 15,18%) dan fraksi etil asetat 0,308g (rendemen 34,20%). Terhadap fraksi etil asetat dilakukan proses isolasi dengan kromatografi cair vakum (KCV) menggunakan fase diam silika gel 60 H dan fase gerak campuran *n*-heksan dan etil asetat dengan penambahan kepolaran secara bergradien. Dari hasil kromatografi lapis tipis diperoleh lima kelompok fraksi, yaitu fraksi A, B, C, D, dan E berdasarkan profil KLT, dengan plat silika gel GF₂₅₄, pelarut toluen-etil asetat (93:7) dan penampak bercak vanilin sulfat 10%.

Fraksi A membentuk cairan seperti minyak, berwarna kekuningan yang masih terdiri dari dua bercak. Fraksi A kemudian dipisahkan secara kromatografi lapis tipis preparatif dengan pengembang toluen-etil asetat (99:1) dan penampak bercak vanilin sulfat 10 % didapat isolat yang disebut CXA. KLT isolat CXA dengan pengembang toluen-etil asetat (99:1) dan penampak bercak vanilin sulfat 10% memberikan bercak tunggal dengan nilai R_f 0.85 pada deteksi menggunakan vanilin sulfat 10%. Konfirmasi kemurnian isolat dilakukan dengan kromatografi lapis tipis dua dimensi menggunakan dua sistem pengembang yang berbeda. Pengembang pertama toluen-etilasetat (99:1) dan kedua *n*-heksan-etilasetat (6:4). Bercak yang diperoleh memberikan bercak tunggal pada deteksi menggunakan

anilin sulfat 10%. Isolat CXA diduga merupakan senyawa golongan seskuiterpenoid karena memberikan warna-warna ketika sampel disari dengan eter dan ditetesi larutan vanilin sulfat.

Hasil Penapisan Fitokimia

Penapisan fitokimia dilakukan terhadap simplisia, ekstrak metanol, dan fraksi etil asetat temulawak untuk mengetahui golongan metabolit sekunder yang terdapat di dalamnya. Hasil penapisan ditunjukkan pada Tabel 1.

Tabel 1. Golongan metabolit sekunder dalam simplisia, ekstrak dan fraksi etil asetat temulawak

Golongan Senyawa	Simplisia	Ekstrak Metanol	Fraksi Etil Asetat
Alkaloid	+	+	+
Polifenolat	+	+	-
Tanin	-	-	-
Flavonoid	+	+	+
Monoterpenoid dan Seskuiterpenoid	+	+	+
Steroid dan Triterpenoid	-	-	-
Kuinon	-	-	-
Saponin	+	+	+

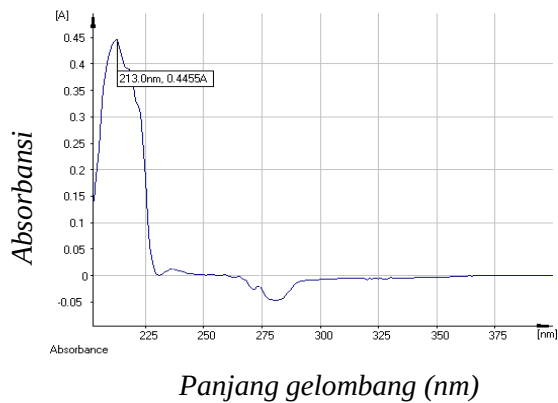
Keterangan: (+) : Terdeteksi

(-) : Tidak terdeteksi

Identifikasi Isolat Rimpang Temulawak

Isolat CXA yang diperoleh dari rimpang temulawak berupa cairan minyak dan diduga merupakan senyawa golongan seskuiterpenoid karena memberikan warna-warna ketika sampel disari dengan eter dan ditetesi larutan vanilin sulfat. Untuk mengidentifikasi senyawa tersebut dilakukan analisis terhadap data spektrum uv, im, dan massa yang ditunjukkan masing-masing pada Gambar 1, 2, dan 3.

Gambar 1 memperlihatkan bahwa pada spektrum UV dihasilkan pita serapan sebesar 0,4455 pada panjang gelombang 213,0 nm. Ini merupakan serapan dari pita etilenik dalam cincin benzen (Supratman, 2007).

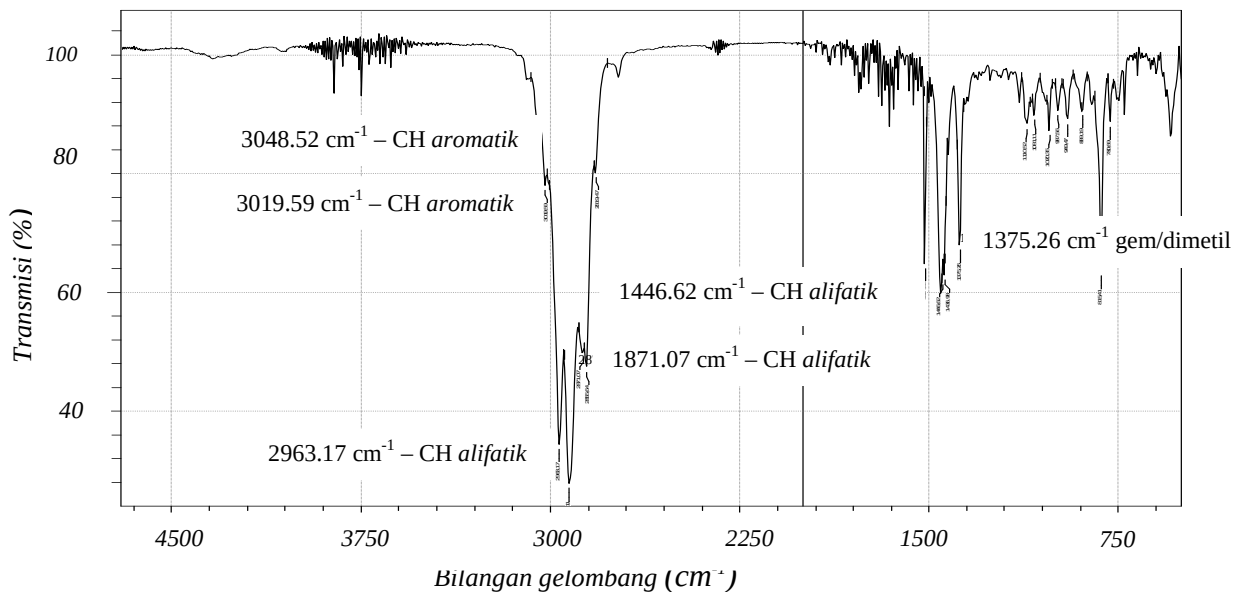


Gambar 1. Spektrum UV isolat CXA

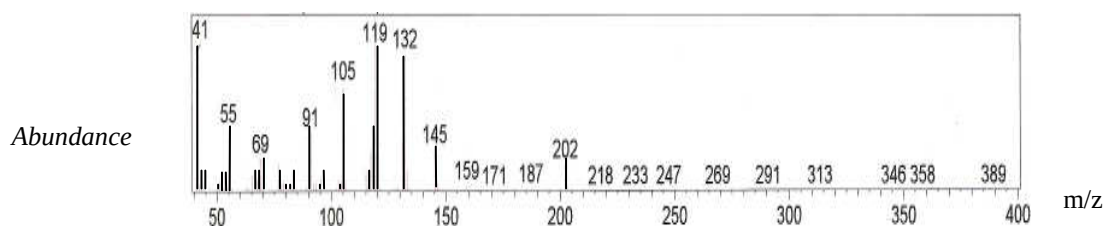
Pada Gambar 2 terlihat bahwa pemeriksaan dengan spektrofotometri inframerah isolat CXA menunjukkan adanya serapan pada bilangan gelombang 3048,52 cm^{-1} (-CH aromatik, bentuk pita tajam), 3019,59 cm^{-1} (-CH aromatik, bentuk pita tajam), 2963,17 cm^{-1} (vibrasi regang -CH alifatik, bentuk pita tajam), 2871,07 cm^{-1} (vibrasi regang -CH alifatik, bentuk pita tajam), 1446,62 cm^{-1} (vibrasi lentur -CH, bentuk pita tajam), 1375,26 cm^{-1} (gem

dimetil/geminal, bentuk pita tajam) (Silverstein, 1991; Supratman, 2007). Hal ini menunjukkan bahwa isolat CXA mengandung gugus-gugus fungsi tersebut.

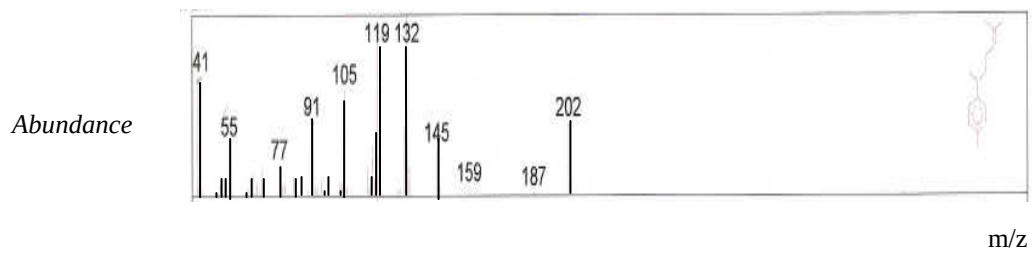
Pada pemeriksaan dengan spektrometri massa (Gambar 3) ditunjukkan bahwa isolat CXA memiliki bobot molekul 202, dengan pola fragmentasi m/z : 202 [M^+], 202, 145, 132, 119, 105, 91, 69, 55, 41 dan puncak dasar (*base peak*) pada 119. Pola fragmentasi isolat ini menggambarkan adanya kemiripan dengan pola fragmentasi ar-kurkumen, yaitu salah satu komponen minyak atsiri golongan seskuiterpenoid dari temulawak. Dari hasil analisis dengan KG-SM dapat diduga bahwa isolat CXA merupakan senyawa ar-kurkumen dengan kemiripan 94 %. Terdapat kemiripan pada pola fragmentasi antara isolat CXA rimpang temulawak dan spektrum ar-kurkumen dengan pola fragmentasi yang sama, sebagai berikut m/z : 202 [M^+], 202, 187, 145, 132, 119, 132, 105, 91, 69, 55, 41 dan puncak dasar (*base peak*) pada 119 (Gambar 4) (NIST Library).



Gambar 2. Spektrum inframerah isolat CXA



Gambar 3. Spektrum massa isolat CXA



Gambar 4. Spektrum massa ar-kurkumen (NIST Library)

Tabel 2. Nilai absorbansi rata-rata cisplatin, ekstrak, fraksi etil asetat, dan isolat temulawak

Konsentrasi ($\mu\text{g/mL}$)	Nilai absorbansi rata-rata $\pm$ SD			
	Cisplatin	Ekstrak	Fraksi Etil Asetat	Isolat
100.000	$0,17 \pm 0,03$	$0,07 \pm 0,02$	$0,06 \pm 0,01$	$0,07 \pm 0,02$
50.000	$0,24 \pm 0,02$	$0,08 \pm 0,02$	$0,08 \pm 0,02$	$0,12 \pm 0,01$
25.000	$0,26 \pm 0,00$	$0,20 \pm 0,01$	$0,18 \pm 0,05$	$0,20 \pm 0,02$
12.500	$0,32 \pm 0,01$	$0,31 \pm 0,00$	$0,31 \pm 0,02$	$0,35 \pm 0,01$
6.250	$0,35 \pm 0,07$	$0,36 \pm 0,12$	$0,35 \pm 0,00$	$0,33 \pm 0,00$
3.125	$0,33 \pm 0,03$	$0,38 \pm 0,03$	$0,35 \pm 0,00$	$0,32 \pm 0,01$

Uji Aktivitas Antiproliferasi

Aktivitas antiproliferasi diperoleh berdasarkan absorbansi pewarna SRB yang menempel pada protein sel yang hidup setelah diberikan sampel. Sel yang masih hidup ini diwarnai dengan 0,4% SRB yang dilarutkan dalam 1% asam asetat. Sel yang terwarnai dilarutkan dengan *Tris base* untuk menentukan *optical density* menggunakan *ELISA plate reader* pada panjang gelombang 515 nm.

Tabel 3. Nilai absorbansi rata-rata *zero day plate* dan DMSO 10%

Keterangan	Nilai absorbansi rata-rata $\pm$ SD
Zero Day Plate	$0,12 \pm 0,02$
DMSO 10 %	$0,33 \pm 0,01$

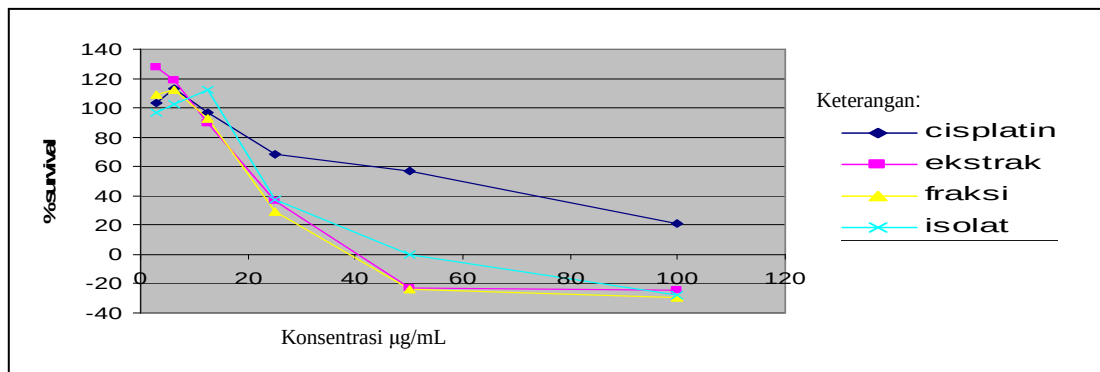
Hasil pembacaan *ELISA reader plate* uji berupa nilai absorbansi untuk setiap sampel dan cisplatin sebagai kontrol positif dapat dilihat pada Tabel 2, sedangkan nilai absorbansi *zero day control* dan DMSO 10 % ditunjukkan pada Tabel 3.

Nilai absorbansi berasal dari jumlah sel yang tersisa setelah pemberian sampel uji

dan cisplatin sebagai kontrol positif. Semakin besar nilai absorbansi, jumlah sel yang hidup dan terwarnai oleh SRB semakin banyak dan dapat dinyatakan bahwa aktivitas antiproliferasinya kecil apabila nilai absorbansinya besar. Dari nilai absorbansi dapat ditentukan nilai persentase *survival* yang menunjukkan aktivitas proliferasi ekstrak, fraksi dan isolat rimpang temulawak. Hasil persentase *survival* dapat dilihat pada Tabel 4 dan grafik persentase *survival* dapat dilihat pada Gambar 5.

Tabel 4. Persentase *survival* cisplatin, ekstrak, fraksi etil asetat dan isolat temulawak

Konsentrasi ($\mu\text{g/mL}$)	Persentase <i>survival</i>			
	Cisplatin	Ekstrak	Fraksi Etil Asetat	Isolat
100.000	21,19	-24,77	-29,46	-27,73
50.000	56,52	-23,04	-23,78	0,19
25.000	68,13	36,26	28,85	37,00
2.500	96,54	89,38	92,59	112,11
6.250	112,85	118,78	112,35	102,72
3.125	103,71	127,92	109,39	96,54



Gambar 5. Grafik persentase *survival* cisplatin, ekstrak, fraksi dan isolat

Berdasarkan hasil perhitungan dan grafik persentase *survival* dapat diketahui bahwa semakin kecil nilai *persentase survival*, aktivitas antiproliferasinya akan semakin baik. Pada grafik tersebut terlihat bahwa kenaikan konsentrasi cisplatin, ekstrak, fraksi etil asetat dan isolat rimpang temulawak menyebabkan kenaikan aktivitas antiproliferasi terhadap sel kanker payudara T47D ($\alpha=0,05$). Dari grafik tersebut diperoleh nilai IC_{50} untuk setiap zat uji, yaitu ekstrak, fraksi etil asetat dan isolat masing-masing sebesar 19,15 µg/mL, 17,07 µg/mL, dan 19,22 µg/mL. Nilai IC_{50} yang kecil tersebut menandakan bahwa ke tiga zat uji memiliki toksisitas yang kuat terhadap sel kanker payudara T47D ($\alpha = 0,05$).

SIMPULAN

Berdasarkan penelitian, diketahui bahwa ekstrak, fraksi etil asetat, dan isolat rimpang temulawak memiliki aktivitas antiproliferasi terhadap sel kanker payudara T47D dengan konsentrasi IC_{50} masing-masing adalah 19,15 µg/mL, 17,07 g/mL, dan 19,22 µg/mL. Kenaikan konsentrasi ekstrak, fraksi etil asetat, dan isolat rimpang temulawak dapat menyebabkan kenaikan aktivitas antiproliferasi ($\alpha=0,05$). Isolat yang dihasilkan merupakan senyawa komponen minyak atsiri, yaitu golongan seskui-terpenoid yang diduga ar-kurkumen.

UCAPAN TERIMA KASIH

Kami ingin mengucapkan terima kasih kepada Professor Dr. Yaya Rukayadi dari *Biomaterials Research Laboratory, Depar-*

ment of Biotechnology College of Life Science and Biotechnology atas diskusi yang berharga selama proses penelitian ini, dan Ambarsari Ayuningtyas untuk data-datanya dalam mendukung penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Boyd. 1990. New colorimetric cytotoxicity assay for anticancer-drug screening. *Journal of NCI*, 82(13):107-112
- Cheah Y.H., Azimahtol H.L., & Abdullah N.R. 2006. Xanthorrhizol Exhibits Antiproliferative Activity on MCF-7 Breast Cancer Cells via Apoptosis Induction, *Journal Anticancer Res*, 26(6B), 4527-4534.
- Choi, M.A., Kim S.H., Chung W.Y., Hwang J.K., Park K.K., 2005, Xanthorrhizol, a Natural Sesquiterpenoid from *Curcuma xanthorrhiza*, has an Antimetastatic Potential in Experimental Mouse Lung Metastasis Model, *J Biophys Res Commun*, 326 (1),210-217.
- Chun K.S., Keum Y.S., Han S.S., Song Y.S., Kim S.H., Surh Y.J. 2003. Curcumin Inhibits Phorbol Ester-induced Expression of Cyclooxygenase-2 in Mouse Skin through Suppression of Extracellular Signal-Regulated Kinase Activity and NF-kappaB activation, *Carcinogenesis Journal*, 24(9), 1515-1524.

- Itokawa, Hideji; Hirayama, Fusayoshi; Funakoshi, Kazuko; Takeya, Koichi. 1985. Studies on the Antitumor Bisanolane Sesquiterpenoids Isolated from *Curcuma xanthorrhiza*. Chem. Pharm. Bull. 33(8): 3488-3492.
- Markam. 1988. Cara Mengidentifikasi Flavonoid. Transletter: Padmawinata dan Sofia Niksolihin. Bandung: ITB Press, 34-53.
- Ministry of Health Republic of Indonesia. 2008. Deteksi Sangat Dini Kanker Payudara, Jawab Untuk Menghindar, <http://www.depkes.go.id/index.php>.
- Nafrialdi & Gan. 2005. Farmakologi dan Terapi. 4th. edition, Jakarta: Gaya Baru. hal. 686-701.
- P. C. Wej. Bejawan., Bejawan T. Pongsri T., Duangta. K., Atchariya. J., & Duangrat. R. 2003. Repellency of Aromatic Turmeric *Curcuma aromatica* under Labory and Field Condition, Journal of Vector Ecology. 28 (2): 234-240.
- Sari, L. 2006. Pemanfaatan Obat Tradisional Dengan Pertimbangan Manfaat dan Keamanannya. Majalah Ilmu Kefarmasian, 3 (1):2.
- Sidik, Soebowo, Moelyono M.W & Mutadi. A. 1992. Temulawak, Bandung: Universitas Padjadjaran.
- Silverstein, R.M., Bassler. G.C., & Morrill. T.C. 1991. Spectrometric Identification of Organic Compounds. 5th Edition. New York: John Wiley and Sons, Inc. p. 93-103.
- Skehan, P., Storeng, D. Scudiero, A. Monks, J. McMahon, D. Vistica, J.T. Warren, H. Bokesch, S. Keney, & M.R.
- Supratman, U. 2007. Elusidasi Struktur Senyawa Organik. Edisi ke-3 . Jurusan Kimia Fakultas MIPA Bandung: Universitas Padjadjaran. hal. 20-22.