

Kardioprotektif Ekstrak Etanol Kunyit Hitam (*Curcuma caesia Roxb*) pada Tikus yang Diinduksi Doksorubisin

Cardioprotective of Ethanol Extract of Black Turmeric (*Curcuma Caesia Roxb*) on Doxorubicin Induced Rats

Nadya Pratiwi^{1*}, Elly Wahyudin², Muhammad Husni Cangara³

¹Program Studi Biomedik, Fakultas Kedokteran, Universitas Hasanuddin, Makassar, Indonesia

²Departemen Farmakologi Toksikologi, Fakultas Farmasi, Universitas Hasanuddin, Makassar, Indonesia

³Departemen Biokimia, Fakultas Kedokteran, Universitas Hasanuddin, Makassar, Indonesia

Abstract

Discovery of black turmeric's anti-radical, anti-inflammatory properties and ability to inhibit the growth of tumor cells. This study aimed to evaluate the cardioprotective effects and identity the effect of black turmeric (*Curcuma caesia Roxb*) ethanol extract in preventing cardiac damage in mice induced by doxorubicin. The experimental design employed is a pre-post test control group design. The study used male Wistar rats weighing between 150-200 grams, divided into 6 groups, with each group consisting of 4 rats. The first group, serving as the normal group, was only provided with food and water. The second group received Na-CMC as a negative control, while the third group was given Vitamin E as a positive control. The fourth, fifth, and sixth groups were administered suspensions of black turmeric extract at doses of 100, 300, and 500 mg/kg BW, respectively. The rats were induced with doxorubicin at a dose of 5 mg/kg BW once a week for 3 weeks. On the final day of treatment, the rats were fasted for 18 hours, anesthetized, and blood samples were taken for analysis. The rats were also secured on a surgical board. Following induction, CKMB and LDH levels were measured again, and histopathological observations were conducted. The results showed CKMB levels indicated significant differences between groups with $p < 0,05$ (0,025), while LDH levels did not show significant differences with $p\text{-value} > 0,05$ (0,225). Histopathological examination of the heart revealed improvements in function and structure in the group IV.

Keywords: black turmeric, heart, doxorubicin

Article history:

Submitted 23 Januari 2023

Accepted 30 Agustus 2024

Published 31 Agustus 2024

PUBLISHED BY:

Sarana Ilmu Indonesia (salnesia)

Address:

Jl. Dr. Ratulangi No. 75A, Baju Bodoa, Maros Baru,
Kab. Maros, Provinsi Sulawesi Selatan, Indonesia

Email:

info@salnesia.id, jika@salnesia.id

Phone: +62 85255155883



Abstrak

Penemuan kandungan kunyit hitam antiradikal, antiradang, serta kemampuan untuk menghambat pertumbuhan sel tumor. Penelitian ini bertujuan untuk mengkaji efek kardioprotektif dan mengidentifikasi efek ekstrak etanol kunyit hitam (*Curcuma caesia Roxb*) terhadap kerusakan jantung pada tikus yang dipicu oleh doksorubisin. Desain penelitian yang digunakan adalah eksperimental yaitu metode *pre-post test control group*. Subjek penelitian melibatkan tikus jantan jenis Wistar dengan berat antara 150-200 gram, terdiri 6 kelompok, beranggotakan 4 ekor tikus. Kelompok pertama, sebagai kelompok normal, hanya diberi makanan dan minuman tanpa perlakuan tambahan. Kelompok kedua menerima Na-CMC untuk kontrol negatif, sedangkan kelompok ketiga diberikan vitamin E untuk kontrol positif. Kelompok keempat, kelima, dan keenam masing-masing diberi suspensi ekstrak kunyit hitam dengan dosis 100, 300 dan 500 mg/kg BB. Tikus-tikus tersebut diinduksi dengan doksorubisin dosis 5 mg/kg BB sekali seminggu selama 3 minggu. Tikus dipuasakan selama 18 jam di hari terakhir, dibius, pengambilan sampel darah untuk dianalisis. Tikus juga dipasang pada papan bedah untuk proses pengamatan lebih lanjut. Setelah proses induksi, kadar CKMB dan LDH diukur ulang, serta dilakukan pengamatan histopatologis. Hasil penelitian menunjukkan pada kadar CKMB menunjukkan perbedaan yang signifikan antar kelompok dengan $p\text{-value} < 0,05$ (0,025), sedangkan kadar LDH tidak menunjukkan perbedaan signifikan dengan $p\text{-value} > 0,05$ (0,225). Pengamatan histopatologi jantung juga menunjukkan perbaikan struktur dan fungsi pada kelompok IV.

Kata Kunci: kunyit hitam, jantung, doksorubisin

*Penulis Korespondensi:

Nadya Pratiwi, email: nadyapratwinp1@gmail.com



This is an open access article under the CC-BY license

PENDAHULUAN

Menurut [Sudewo](#) (2011), kanker adalah kematian di banyak negara. Kanker yang terlihat sebagai benjolan. Namun, kanker yang tumbuh di dalam tubuh sering kali baru terdeteksi ketika sudah berada pada tahap lanjut, sehingga menyulitkan pengobatan. Doksorubisin, obat yang termasuk dalam kelompok antrasiklin, sering digunakan untuk pengobatan beberapa jenis kanker ([Marques et al.](#), 2018).

[Vasquez et al.](#) (2019) menjelaskan bahwa adanya efek samping pada jaringan sehat saat pemberian doksorubisin, khususnya jantung, serta menurunkan fungsi kekebalan tubuh. Jantung memiliki metabolisme yang sangat aktif, namun kapasitas antioksidannya lebih rendah dibandingkan organ lain, akibatnya membuat sangat rentan terhadap kerusakan karena radikal bebas, termasuk kerusakan yang diakibatkan oleh doksorubisin ([Brunton et al.](#), 2018).

Antioksidan terbagi menjadi dua kategori utama: alami dan sintetis. Meskipun tubuh manusia mampu memproduksi antioksidan secara alami, paparan radikal bebas yang berlebihan membutuhkan tambahan antioksidan dari luar, yang bisa diperoleh melalui konsumsi buah-buahan atau tanaman tertentu.

kunyit hitam dikenal memiliki sumber antioksidan. Tanaman ini dari kawasan Asia Selatan, namun kini tergolong langka karena tingginya permintaan dan praktik eksploitasi yang tidak terkendali. Kunyit hitam mengandung berbagai senyawa bioaktif seperti kurkuminoid, fenolik, flavonoid, minyak atsiri, alkaloid, protein, serta beberapa jenis asam amino ([Nuraeni et al.](#), 2018). Secara tradisional, kunyit hitam bermanfaat

mengobati luka, panas, muntah, masalah menstruasi, tumor, dan wasir (Iweala *et al.*, 2020; Kumar *et al.*, 2020). Penemuan kandungan kunyit hitam antiradikal, antiradang, serta kemampuan untuk menghambat pertumbuhan sel tumor (Ibrahim *et al.*, 2023).

Di Indonesia, kunyit hitam masih kurang dikenal dan sulit ditemukan karena merupakan varian relatif baru dalam keluarga *Curcuma*. Oleh karena itu, penelitian yang meneliti potensikunyit hitam sebagai agen kardioprotektif disebabkan doksorubisin menjadi sangat penting untuk dilakukan.

METODE

Penelitian ini berlangsung dari Agustus hingga November 2022 di berbagai lokasi, termasuk Laboratorium Biofarmaka untuk proses ekstraksi, Laboratorium Biofarmasetika di Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin Makassar untuk pemeliharaan hewan uji tikus, Balai Besar Laboratorium Kesehatan Makassar untuk analisis serum darah, serta Rumah Sakit Pendidikan Universitas Hasanuddin untuk pemeriksaan histopatologi.

Seluruh bahan dan *reagen* yang dipakai dibeli dari distributor resmi, sementara doksorubisin didapatkan dari apotek. Bahan kunyit hitam (*Curcuma caesia Roxb*) dikumpulkan dari Dusun Kasambi, Desa Sulai, Kecamatan Ulumanda, Majene Sulawesi Barat. Meskipun tidak dilakukan pengukuran flavonoid secara spesifik dalam penelitian ini, literatur terdahulu telah mengidentifikasi bahwa kunyit hitam mengandung flavonoid, senyawa antioksidan yang memiliki potensi untuk memberikan perlindungan kardiovaskular.

Proses ekstraksi dimulai dengan menimbang 600 gram serbuk kering kunyit hitam (*Curcuma caesia Roxb*) dan memasukkannya ke dalam bejana maserasi. Kemudian, sedikit etanol 70% ditambahkan untuk melembabkan bahan, dan setelah semua bagian terbasahi, etanol 70% kembali ditambahkan hingga simplisia terendam seluruhnya. Bejana kemudian ditempatkan dalam alat sonikator selama 60 menit, lalu didiamkan selama sehari di tempat yang terlindung dari cahaya. Setelah itu, bahan disaring dan proses maserasi diulang tiga kali menggunakan pelarut yang sama. Ekstrak yang dihasilkan diuapkan hingga tersisa ekstrak kental.

Protokol hewan

Sebelum perlakuan dimulai, tikus-tikus menjalani masa adaptasi lingkungan selama tujuh hari, sesuai dengan panduan ARRIVE 2,0 tentang pelaporan penelitian hewan, yang mencakup periode adaptasi selama 7 hari sebelum eksperimen dimulai. Sebanyak 24 tikus jantan jenis Wistar dengan berat antara 150 hingga 200 gram dikelompokkan menjadi enam, dengan setiap kelompok memiliki empat ekor tikus. Sebelum memulai perlakuan, diawali sampel darah diukur kadar awal CKMB maupun LDH.

Kelompok pertama berfungsi sebagai kelompok normal yang hanya diberikan pakan dan minuman tanpa perlakuan tambahan. Kelompok kedua menerima Na-CMC sebagai kontrol negatif untuk memastikan bahwa perubahan yang terjadi diakibatkan oleh induksi doksorubisin, bukan oleh pelarut (Djabir *et al.*, 2017). Kelompok ketiga berfungsi sebagai kontrol positif dengan pemberian Vitamin E. Kelompok keempat, kelima, dan keenam masing-masing menerima suspensi ekstrak kunyit hitam dengan dosis 100 mg/kg BB, 300 mg/kg BB, dan 500 mg/kg BB. Berdasarkan dosis pada penelitian sebelumnya yaitu adanya potensi efek kardioprotektif ekstrak etanol kunyit

hitam pada dosis tersebut (Devi *et al.*, 2020).

Induksi doksorubisin terhadap tikus dengan dosis 5 mg/kg BB sakali setiap minggu sekitar tiga minggu. Sebelum induksi, tikus diberi perlakuan dengan Na-CMC, Vitamin E, serta ekstrak kunyit hitam dalam dosis 100 mg/kg BB, 300 mg/kg BB, dan 500 mg/kg BB sekitar 3 minggu. Tikus dipuaskan sekitar 18 jam, kemudian dibius menggunakan ether teknis untuk pengambilan darah. Setelah pengambilan darah, tikus ditambatkan pada papan bedah dengan keempat kakinya terikat untuk memudahkan pengamatan. Kadar CKMB diukur kembali setelah induksi, dan pemeriksaan histopatologi juga dilakukan untuk mengevaluasi hasil perlakuan.

Pengukuran CKMB dan LDH

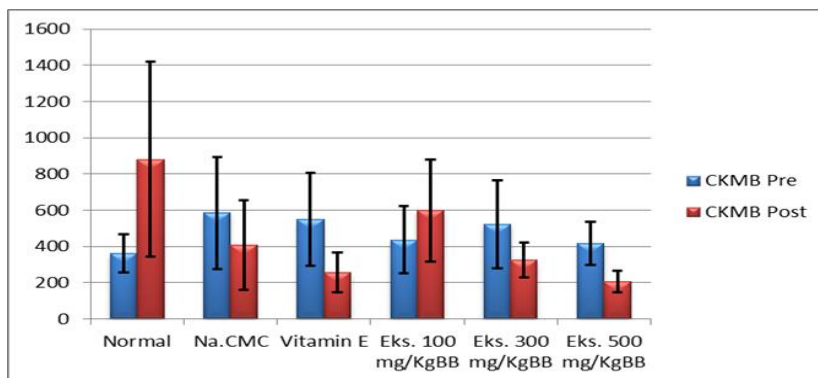
Pada pemeriksaan CKMB dan LDH, masukkan 50 µl serum ke dalam cup sampel dan tambahkan 500µl *reagen*. Letakkan sampel sesuai posisi yang ditentukan, tutup penutup alat, tekan tombol run 2 detik untuk memulai pemeriksaan dan tunggu hasil keluar.

Pengamatan histopatologi jantung tikus

Kemampuan kardioprotektif ekstrak kunyit hitam dianalisis berdasarkan pemeriksaan histopatologi jantung tikus yang diinduksi doksorubisin secara intraperitoneal dengan metode Mitchell. Secara kualitatif, diamati adanya perdarahan, inflamasi dan nekrosis sel pada jantung.

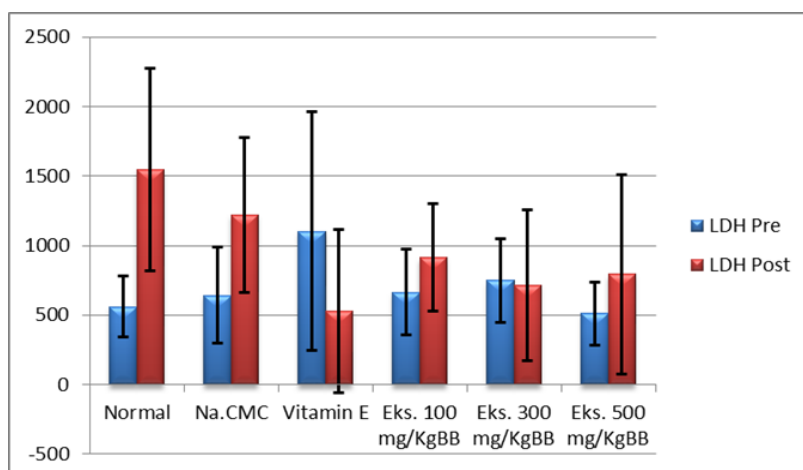
HASIL DAN PEMBAHASAN

Sesudah diinduksi dengan doksorubisin seminggu sekali selama 21 hari, pada kelompok normal tanpa perlakuan kadar CKMB meningkat tajam dari 361 U/L menjadi 880,25 U/L. Pada kelompok kontrol negatif, kadar CKMB menurun dari 585 U/L setelah pemberian Na-CMC dan doksorubisin menjadi 409,5 U/L. Kadar CKMB kelompok kontrol positif menurun dari 549,5 U/L setelah pemberian vitamin E dan doksorubisin menjadi 257 U/L. Pada kelompok IV, kadar CKMB sebelum perlakuan 437,5 U/L, namun setelah perlakuan meningkat menjadi 598 U/L. Pada kelompok V, kadar CKMB sebelum perlakuan 515,25 U/L; setelah perlakuan menurun sebesar 325 U/L, dan kelompok VI kadar CKMB sebelum perlakuan sebesar 417 U/L. Setelah perlakuan menjadi 207,75 U/L. (Lihat Gambar 1)



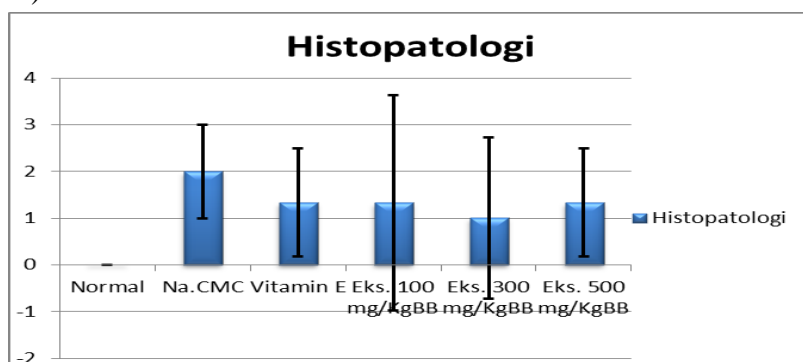
Gambar 1. Grafik pengukuran kadar CKMB
 Hasil kadar LDH setelah diinduksi dengan doksorubisin seminggu sekali selama

21 hari, pada kelompok normal tanpa perlakuan kadar LDH meningkat tajam dari 561,5 U/L menjadi 1547 U/L. Pada kelompok kontrol negatif, kadar LDH meningkat dari 643,25 U/L setelah pemberian Na-CMC dan dokсорubisin menjadi 1219 U/L. Pada kelompok kontrol positif, kadar LDH menurun dari 1103 U/L setelah pemberian Vitamin dan dokсорubisin menjadi 528,25 U/L; pada kelompok IV kadar LDH sebelum perlakuan 660 U/L setelah perlakuan meningkat menjadi 913,75 U/L. Pada kelompok V, kadar LDH sebelum perlakuan sebesar 750,25 U/L; setelah perlakuan menurun menjadi 683,75 U/L. Sedangkan kelompok VI mengalami penurunan, kadar LDH sebelum perlakuan 611 U/L setelah perlakuan 792,25 U/L. Data menunjukkan kenaikan kadar CKMB dan LDH pada beberapa kelompok, termasuk kelompok yang diberi dosis ekstrak kunyit hitam yang lebih tinggi (500 mg/kg BB). Peningkatan ini disebabkan oleh kerusakan sel jantung akibat induksi radikal bebas dari dokсорubisin. Meskipun ada kenaikan, kelompok yang diberikan dosis 300 mg/kg BB menunjukkan penurunan signifikan pada kadar CKMB dibandingkan kelompok lainnya, menunjukkan efek kardioprotektif yang optimal pada dosis ini. Kenaikan yang terlihat pada dosis 500 mg/kg BB bisa disebabkan oleh dosis yang terlalu tinggi, yang tidak memberikan perlindungan. (Lihat Gambar 2)



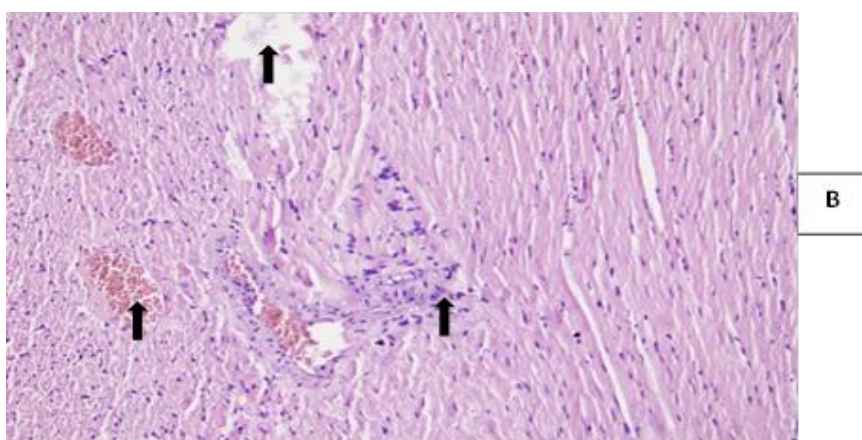
Gambar 2. Grafik pengukuran kadar LDH

Pada hari ke-21, semua hewan coba diterminasi, dan diambil jantungnya untuk uji histopatologi untuk melihat efek kardioprotektif ekstrak kunyit hitam (*Curcuma caesia Roxb*).

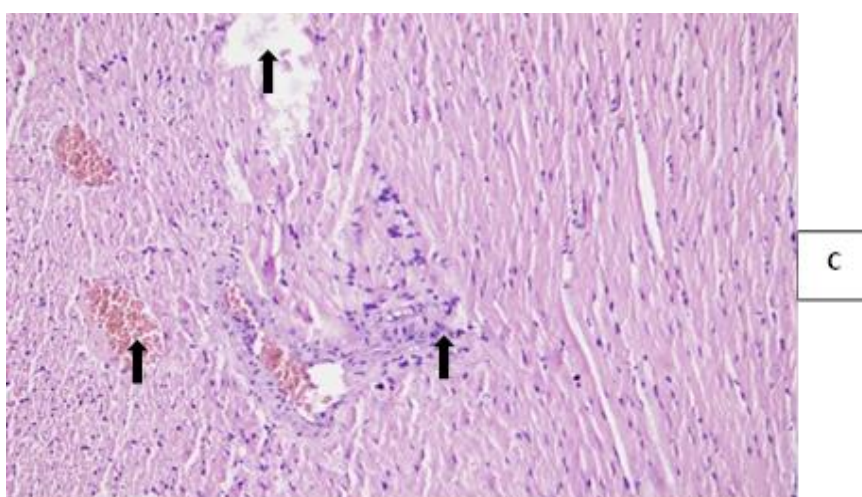


Gambar 3. Grafik rata-rata skor histopatologi jantung tikus

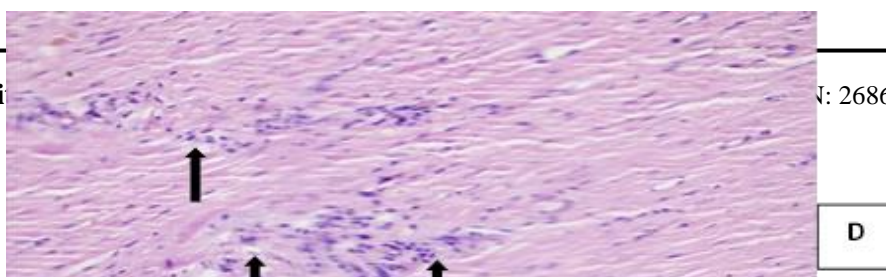
Gambar 4. Kelompok normal/sehat (Gambaran histopatologi jantung tikus tanpa degenerasi/nekrosis)



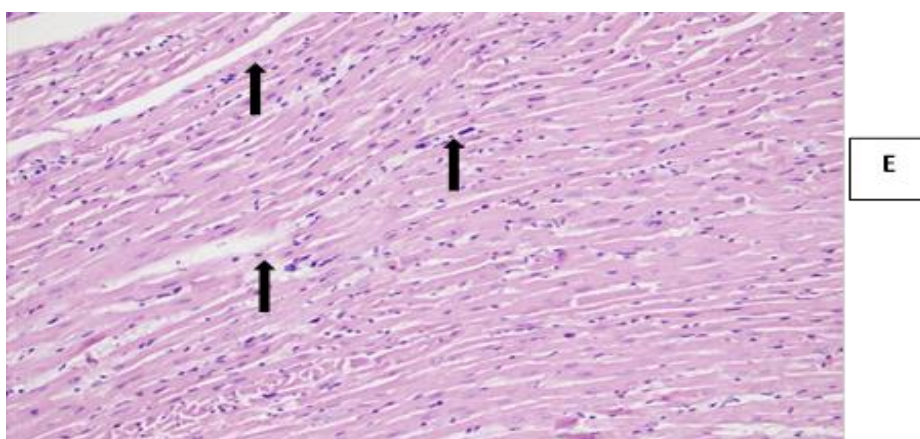
Gambar 5. Kelompok Na-CMC (Gambaran histopatologi jantung tikus dengan degenerasi/nekrosis difus)



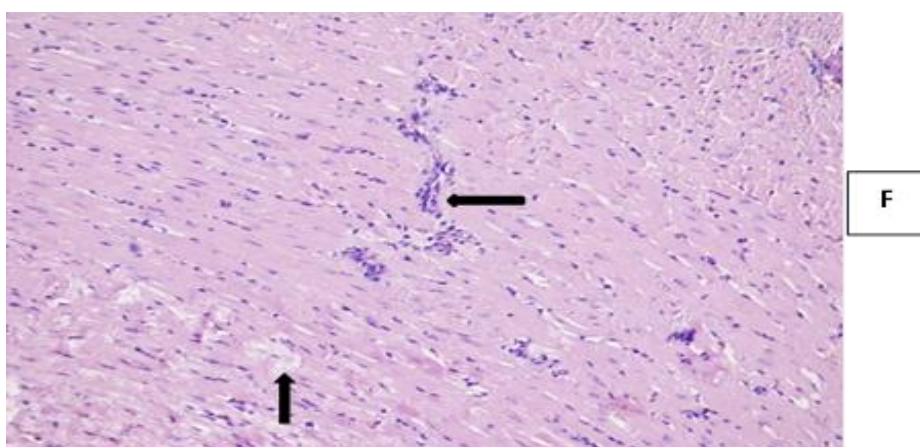
Gambar 6. Kelompok vitamin E (Gambaran histopatologi jantung tikus dengan degenerasi/nekrosis multifokal)



Gambar 7. Kelompok EEKH 100 mg/kg BB (Gambar histopatologi jantung tikus yang mengalami degenerasi/nekrosis difus berat)



Gambar 8. Kelompok EEKH 300 mg/kg BB (Gambar histopatologis jantung tikus yang mengalami degenerasi/nekrosis)



Gambar 9. Kelompok EEKH 500 mg/kg BB (Gambaran histopatologi jantung tikus dengan degenerasi/nekrosis multifokal)

Menurut referensi pada Djabir (2017) beserta Harahap dan Marpaung (2021), nilai normal CKMB (55-179 U/L) dan LDH (250-450 U/L) telah dilampaui oleh semua kelompok tikus, termasuk yang tidak diinduksi doksorubisin. Hal ini mungkin disebabkan oleh stres adaptasi lingkungan, manipulasi sebelum eksperimen, atau kondisi laboratorium yang memicu peningkatan kadar CKMB. Variasi biologis antar tikus juga dapat memengaruhi hasil ini. Walaupun demikian, penelitian tetap berfokus pada perubahan pasca-perlakuan. Kelompok yang diberikan dosis 300 mg/kg BB menunjukkan penurunan signifikan pada CKMB, ditegaskan efek kardioprotektif ekstrak kunyit hitam. Hasil yang diperoleh berbeda karena terdapat perbedaan metode dan alat yang digunakan.

Adapun hasil pengukuran serum pada CKMB dan LDH yang diperoleh kemudian dianalisis menggunakan aplikasi SPSS. Dari hasil normalitas dan homogenitas telah dilakukan sebelum analisis ANOVA, dan syarat tersebut terpenuhi, sehingga dapat dilakukan uji ANOVA. Pada nilai serum CKMB menunjukkan $p < 0,05$ (0,025) yang berarti setiap perlakuan baik pemberian ekstrak maupun kontrol berbeda, sedangkan pada nilai serum LDH menunjukkan $p > 0,05$ (0,225), yang berarti tidak berbeda nyata. Dari hasil uji lanjutan (uji TUKEY) terlihat perbedaan yang signifikan dinilai serum CKMB CKMB antara kelompok normal dan kelompok III, serta kelompok V dan VI, dengan $P < 0,05$. Sementara itu, kelompok II, kelompok IV dan kelompok V tidak menunjukkan perbedaan signifikan dibandingkan dengan kelompok III, dengan nilai $p > 0,05$.

Peningkatan yang terjadi dikadar CKMB dan LDH pada tikus disebabkan karena doksorubisin mampu merusak jantung akibat efek radikal bebas dan adanya superoksida. Jantung merupakan jaringan utama yang menjadi efek kerusakan akibat adanya radikal bebas dan ROS (Spesies oksigen reaktif) (Hassanpour dan Dorodi, 2022). Hal ini disebabkan rendahnya jumlah enzim/molekul yang mampu menangkap radikal bebas (Singh *et al.*, 2020). Enzim melepaskan sel jantung yang rusak termasuk CKMB dan LDH. Konsentrasi plasma dari setiap enzim dan protein berbeda berdasarkan pada waktu cedera, tingkat kerusakan sel (Corwin, 2009).

Secara teori pemberian kunyit hitam dapat menurunkan kadar CKMB dan LDH dalam darah karena memiliki kandungan sebagai antioksidan (Pradeep *et al.*, 2021) yaitu flavonoid. Penelitian tentang peran flavanoid memiliki efek sebagai aktivitas kardioprotektif dan anti-poliperatif. Hasil dalam kelompok V untuk efek kardioprotektif terbaik, sedangkan kelompok VI tidak terdapat hasil lebih sesuai, bahkan terjadi peningkatan CKMB dan LDH pada dosis tertinggi (Harahap dan Marpaung, 2021).

Pada hasil pemeriksaan histopatologi jantung tikus, kelompok normal tidak menunjukkan adanya kelainan. Sementara itu kelompok dua, pengamatan terhadap inflamasi, perdarahan, dan nekrosis menunjukkan adanya kerusakan dengan rata-rata 25%. Pada kelompok kontrol positif serta kelompok IV, V dan VI tingkat kerusakan berada dalam rentang 25% hingga 50%. Adanya zat racun yang masuk bersamaan dengan aliran darah ke jantung, sel dapat mengalami perubahan yang menyebabkan kematian sel atau nekrosis. Zat kimia beracun adalah salah satu penyebab nekrosis pada sel.

KESIMPULAN

Ekstrak kunyit hitam (*Curcuma caesia* Roxb) memiliki efek perlindungan terhadap fungsi jantung berdasarkan pengukuran kadar CKMB dan LDH. Pada kelompok III menunjukkan efek kardioprotektif yang baik.

DAFTAR PUSTAKA

- Brunton LL., Hilal-Dandan R., Knollmann BC. 2018. Goodman & Gilman's: The Pharmacological Basis of Therapeutics. New York: McGraw-Hill Education.
- Corwin EJ. 2009. Buku Saku Patofisiologi Edisi III Revisi. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Devi TP., Chowdhury B., Islam MA., Borah S. 2024. Profiling the Aroma Diversity in *Curcuma caesia* Roxb. Indigenous to Manipur India. African Journal of Biological Science, 6(Si3): 3079-3089. <https://www.afjbs.com/uploads/paper/df3168b11f3dc844c4135ab273aabc16.pdf>
- Djabir YY., Arsyad A., Sartini., Subehan. 2017. Potential Roles of *Kleinhovia* Hospital Leaf Extract in Reducing Doxorubicin Acute Hepatic, Cardiac and Renal Toxicities in Rats. Pharmacogn Res, 9(2): 168-173. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5424558/>
- Harahap NS., Marpaung DR. 2021. Respon Laktat Dehidrogenase (LDH) Setelah Aktivitas Fisik Intensitas Berat pada Tikus Putih (*Rattus Norvegicus*). Jurnal Ilmiah Olahraga, 5(1): 61-69. <https://digilib.unimed.ac.id/id/eprint/42691/>
- Hassanpour SH., Doroudi A. 2022. Review of the Antioxidant of Flavanoids as a Subgroup of Polyphenols and Partial Substitute for Synthetic Antioxidants. Avicenna Journal Phytomedicine, 13(4): 354-376. <https://doi.org/10.22038/ajp.2023.21774>
- Ibrahim NNA., Mustapha WAW., Seng NSS., Lim SJ., Razali NSM., Teh AH., Rahman HA., Mediani A. 2023. A Comprehensive Review with Future Prospects on the Medicinal Properties and Biological Activities of *Curcuma caesia* Roxb. Evid Based Complement Alternat Med. <https://doi.org/10.1155/2023/7006565>
- Iweala EJ., Uche ME., Dike ED., Etumnu LR., Dokunmu TM., Oluwapelumi AE., Okoro BC., Dania OE., Adebayo AH., Ugboogu EA. 2023. *Curcuma Longa* (Turmeric): Ethnomedicinal Uses, Phytochemistry, Pharmacological Activities and Toxicity Profiles- A Review. Pharmacological Research, 6(4): 1-21. <http://dx.doi.org/10.1016/j.prmcm.2023.100222>
- Kumar., Ghautam SS. 2020. Volatile Constituen of *Curcuma Caesia* Roxb. Rhizome from North India. National Academy Science Letters, 43: 607-610. <http://dx.doi.org/10.1007/s40009-020-00926-y>
- Marques AI., Santos AE., Oliveira PJ, Moreira PI, Magalhaes J, Ascensao A. The Beneficial Role of Exercise in Mitigating Doxorubicin Induced Mitochondrionopathy. Elsevier, 1869(2): 189-99. <https://doi.org/10.1016/j.bbcan.2018.01.002>
- Nuraeni S., Raihandhany R., Suparman U., Warsono., Winajat S. 2023. Ulasan Botani dan Ptensi Kunyit Hitam (*Curcuma Caesi* Roxb) Sebagai Program Pengelolaan Keanekaragaman Hayati dan Pembinaan Kelompok Tani Cianjur oleh PT. Tirta Investama (TIV) Cianjur, 24 (1): 1-10. <https://ejournal.undip.ac.id/index.php/bioma/article/view/49451>
- Pradeep M., Suresh KK., Raman K. 2021. GC-MS and FT-IR Analysis of Bioactive Compounds in *Curcuma Caesia* Roxb (Black Turmeric). Journal of Ethnopharmacology, 142(2): 215-223. <http://dx.doi.org/10.5530/pj.2017.6.149>
- Singh R., Chauhan A., Yadav P. 2020. Oxidative Stress in Cardiovascular Disease: A Comprehensive Review. International Journal of Biological Science, 13(2): 107-118.
- Sudewo B. 2011. Basmi Kanker dengan Herbal. Jakarta: Visimedia.

Vasquez VJ., Martasek P., Hogg N., Masters BSS., Pritchard KA. 2019. Endothelial Nitric Oxide Synthase-Dependent superoxide Generation from Adriamycin. *Biochemistry*, 36 (38): 11293–11297. <https://doi.org/10.1021/bi971475e>