

EFEK SITOTOKSIK EKSTRAK TANAMAN KELADI TIKUS (*Typhonium divaricatum* (L.) TERHADAP SEL HeLa

Muhammad Da'i^{1,3)}, Anis Fiveri¹⁾, dan Edy Meiyanto^{2,3)}

¹⁾Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta, ²⁾Fakultas Farmasi UGM, ³⁾Cancer Chemoprevention Research Center Fakultas Farmasi UGM

ABSTRACT

Cervic cancer is the most cancer that suffered by women in the world include in Indonesia. The main purposes of this experiment is to explore the Indonesian plan to find new anticancer agent. This experiment exhibit the cytotoxic effect of (*Typhonium divaricatum* (L.) Decne) on HeLa cells line. This experiment also directed to know the correlation phenolic content with the cytotoxic effect of extracts *Typhonium divaricatum*. The result indicated ethyl acetate extract had the best potency as cytotoxic agent compared with ethanol and chloroform extract based on MTT method. The IC50 value of ethyl acetate extract was 147,77 µg/ml, chloroform extract was 903,44 µg/ml (based on the extrapolation). Ethanol extract was not resulted the IC50 value. Phenol content in each extracts was resulted by Folin-Ciocalteu method. Total phenol content of ethyl acetate, ethanol and chloroform extracts were 13.154; 12.028; 2.872 mg/g extract respectively. Those results indicate there is no correlation between total phenol content and cytotoxic effect directly of each extracts.

Keywords: Typhonium divaricatum, extract, cytotoxicity

ABSTRAK

Kanker leher rahim adalah kanker yang banyak diderita wanita diseluruh dunia, termasuk di Indonesia. Selama ini terapi kanker dengan kemoterapi belum memperoleh hasil yang memuaskan. Penelitian ini dilakukan untuk mendapatkan bahan obat dari alam sebagai antikanker dari tanaman Indonesia. Penelitian ini dilakukan untuk menentukan efek sitotoksik keladi tikus (*Typhonium divaricatum* (L.) Decne) pada sel kanker leher rahim (sel HeLa) dan diarahkan pula untuk mengetahui korelasi kandungan senyawa fenolik terhadap potensi sitotoksitas ekstrak tanaman keladi tikus. Hasil uji sitotoksik terhadap sel HeLa, ekstrak etil asetat memiliki efek sitotoksik terbesar terhadap sel HeLa dibanding ekstrak kloroform dan etanol. Nilai IC50 ekstrak etil asetat adalah 147,77 µg/ml, kloroform sebesar 903,44 µg/ml (hasil ekstrapolasi), sedangkan harga IC50 ekstrak etanol tidak dapat ditentukan. Penetapan kadar fenol total dalam masing-masing ekstrak ekstrak tanaman keladi tikus diperoleh dengan penyari etil asetat (13,154 mg/g ekstrak) > etanol (12,028 mg/g ekstrak) > kloroform (2,872 mg/g ekstrak). Hasil-hasil tersebut menunjukkan kandungan senyawa fenolik bukan merupakan penanda utama potensi sitotoksik suatu ekstrak.

Kata kunci : Typhonium divaricatum, ekstrak, sitotoksitas

PENDAHULUAN

Penyakit kanker menempati peringkat ke-6 dari seluruh penyakit

yang ada di Indonesia. Kanker menjadi penyebab kematian dengan urutan ke-12 dan naik menjadi urutan ke-6 dalam kurun waktu sepuluh

tahun. Setiap tahun diperkirakan terdapat 190.000 penderita baru dan seperlima diantaranya meninggal (1). Hingga saat ini kanker serviks masih menempati urutan pertama penyakit paling banyak menyerang wanita di Indonesia. Sementara di dunia penderita kanker ini terbanyak kedua setelah kanker payudara (2).

Penyembuhan kanker dapat dilakukan dengan dua cara yaitu cara konvensional dan non konvensional. Pengobatan secara modern atau konvensional (medis) dirasa sangat mahal, efek sampingnya cukup tinggi dan hasilnya belum tentu memuaskan. Keladi tikus (*Typhonium divaricatum* (L.) Decne), merupakan salah satu tanaman obat yang potensial untuk dikembangkan sebagai antikanker. Keladi tikus dari spesies *Typhonium flagelliforme* (Lodd.) BL telah lama dikenal sebagai bahan obat tradisional yang ampuh dalam melawan sel kanker. Beberapa penelitian yang dilakukan di Malaysia, keladi tikus (*Typhonium flagelliforme* (Lodd.) BL) dapat mengurangi keluhan rasa sakit ataupun terjadinya metastase atau penyebaran sel kanker, meliputi: kanker payudara, kanker nasopharing, kanker liver, kanker leher rahim, kanker pankreas, kanker prostate dan kanker paru-paru (3). Beberapa produk menggunakan spesies *Typhonium flagelliforme* menunjukkan potensi antikanker spesies tersebut. Tanaman dengan genus yang sama dimungkinkan memiliki potensi aktivitas yang sama, untuk itu penelitian ini akan difokuskan untuk mengamati efek sitotoksik Keladi Tikus dari spesies *Typhonium divaricatum* (L.) Decne. Publikasi populer melaporkan spesies ini mampu menghambat pertumbuhan sel kanker payudara (4). Bukti ilmiah tanaman *Typhonium divaricatum* sebagai agen sitotoksik belum banyak dijumpai.

Senyawa-senyawa fenolik telah dibuktikan memiliki efek pada proliferasi dari sel T47D, dan menunjukkan penghambatan terhadap pertumbuhan sel, dan hal ini tergantung pada waktu dan dosis (5). Demikian pula dalam beberapa review ditunjukkan senyawa-senyawa fenolik dalam tanaman diduga bertanggung jawab terhadap potensi antikanker (6; 7; 8). Senyawa-senyawa fenolik tersebut dapat berperan sebagai senyawa kemopreventif ataupun dapat memacu terjadinya penghambatan siklus sel ataupun apoptosis.

Penelitian ini diarahkan pula untuk melihat korelasi kandungan senyawa fenolik dengan potensi sitotoksitas ekstrak tanaman keladi tikus terhadap sel HeLa.

METODOLOGI PENELITIAN

Preparasi ekstrak

Serbuk kering daun keladi tikus (*Typhonium divaricatum* (L.) Decne) ditimbang sebanyak 97,81 g direndam dengan kloroform dengan penggojogan dan setiap 24 jam *solvent* diganti. Setelah 5 hari maserat disaring. Filtrat diuapkan dengan cara dievaporasi, sehingga diperoleh ekstrak kloroform pekat. Ampas dikeringkan dengan cara dianginanginkan dan selanjutnya direndam dengan etil asetat dengan penggojogan, dan setiap 24 jam *solvent* diganti. Setelah 5 hari dilakukan penyaringan. Filtrat diuapkan dengan cara dievaporasi, sehingga diperoleh ekstrak etil asetat pekat. Kemudian ampas dikeringkan dan direndam dengan etanol 96% dengan penggojogan dan tiap 24 jam *solvent* diganti. Setelah 5 hari maserat disaring dan filtratnya dicampur dan diuapkan dengan cara dievaporasi sehingga diperoleh ekstrak etanol pekat.

Uji sitotoksitas dengan metode MTT (3-(4, 5- dimetil tiazol-2-il-2, 5-difenil tetrazolium bromide) test

Suspensi sel sebanyak 100 ml (kepadatan 3×10^4 sel/sumuran) dimasukkan ke dalam plate 96 sumuran kemudian ditambahkan 100 ml sampel dalam media kultur RPMI 1640, sehingga diperoleh kadar akhir dari sampel dengan variasi kadar tertentu (5, 10, 25, 125, 250 mg/ml). Selanjutnya plate diinkubasi dalam inkubator CO₂ 5% selama 24 jam pada suhu 37°C. Pada akhir inkubasi, media diambil dan digantikan dengan media baru dengan volume 100 ml. Sel ditambahkan 15 ml MTT dan diinkubasi lagi selama 4 jam pada suhu 37°C. Sel yang hidup akan bereaksi dengan MTT membentuk warna ungu. Reaksi MTT dihentikan dengan penambahan SDS sebanyak 100 ml tiap sumuran. Selanjutnya diinkubasi lagi semalam. Serapan dibaca dengan ELISA reader pada panjang gelombang 550 nm.

Penetapan kadar senyawa fenolik

Kurva baku asam galat diperoleh dari pengukuran serapan seri konsentrasi asam galat yang diperoleh dari larutan stok asam galat 0,04%. Seratus mikroliter larutan baku ditambah 100 ml Folin Ciocalteu ditambah 2 ml air digojog dan didiamkan selama 5 menit kemudian ditambah 2 ml Na₂CO₃ 7% kemudian ditambah aquabidest sampai 5 ml dan divortek selama 30 detik. Absorbansi dibaca setelah 60 menit dan pada panjang gelombang 705 nm. Persamaan kurva baku diperoleh: $Y = 0,129 X + 0,1042$ dengan nilai koefisien regresi (r) = 0,997.

Sejumlah sampel diambil dari larutan stok 0,4% berturut-turut 600 µl, 600 ml dan 2000 ml, kemudian pada masing-masing sampel ditambah 100 ml Folin Ciocalteu

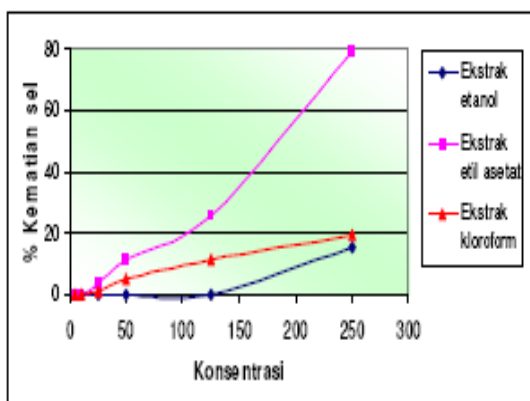
ditambah 2 ml air digojog dan didiamkan selama 5 menit kemudian ditambah 2 ml Na₂CO₃ 7% kemudian ditambah aquabidest sampai 5 ml dan divortek selama 30 detik. Absorbansi dibaca setelah 60 menit dan pada panjang gelombang 705 nm. Kadar ditentukan berdasarkan persamaan kurva baku.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Uji sitotoksitas dilakukan terhadap sel HeLa dengan menggunakan pelarut DMSO melarutkan ketiga ekstrak. Analisa *doubling time* untuk sel HeLa tanpa perlakuan dan dengan perlakuan blanko DMSO menunjukkan profil pertumbuhan yang relatif sama, hal ini menunjukkan bahwa penggunaan pelarut DMSO sampai dengan kadar 0,1 % dalam uji tidak berpengaruh pada sel HeLa (9). Hasil uji sitotoksitas terhadap ketiga ekstrak menunjukkan ekstrak etil asetat memiliki potensi sitotoksik terbesar dibanding ekstrak etanol maupun ekstrak kloroform (Tabel 1 dan Gambar 1). Perhitungan nilai IC₅₀ dengan menggunakan analisis probit diperoleh nilai IC₅₀ ekstrak etil asetat 147,77 mg/ml. Perhitungan ekstrapolasi terhadap ekstrak kloroform diperoleh nilai IC₅₀ 903,44 mg/ml sementara ekstrak etanol tidak dapat ditentukan nilai IC₅₀-nya. Berdasarkan hasil percobaan tersebut ekstrak etil asetat memiliki potensi efek sitotoksik terbesar dibanding ekstrak kloroform maupun ekstrak etanol terhadap sel HeLa. Senyawa-senyawa fenolik diduga bertanggung jawab terhadap potensi sitotoksik ekstrak. Sehingga perlu dilakukan penetapan kadar senyawa fenolik dalam masing-masing ekstrak untuk mengetahui korelasi kandungan senyawa fenolik dengan potensi sitotoksik ekstrak tanaman.

Tabel 1
Prosentase kematian dan angka probit kematian sel HeLa pengaruh perlakuan ekstrak tanaman Keladi tikus pada berbagai konsentrasi uji

C (µg/ml)	Log C (µg/ml)	Ekstrak Etanol		Ekstrak Etil Asetat		Ekstrak Kloroform	
		%KS	Probit	%KS	Probit	%KS	Probit
250	2,3979	15,10	-	78,65	5,80	19,53	4,16
125	2,0969	0	-	25,52	4,36	11,20	3,77
50	1,6990	0	-	11,20	3,77	5,21	3,36
25	1,3979	0	-	3,125	3,12	1,04	2,67
10	1,0000	0	-	0	-	0	-
5	0,6990	0	-	0	-	0	-

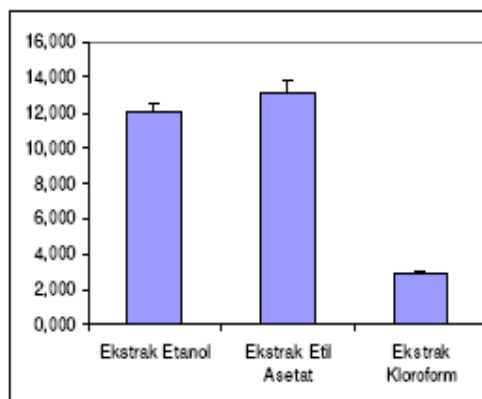


Gambar 1. Kenaikan konsentrasi ekstrak menyebabkan kenaikan prosentase kematian sel. Ekstrak etil asetat memiliki potensi terbesar

Penetapan kadar fenol dengan menggunakan metode Folin-Ciocalteu menunjukkan ekstrak etil asetat (13,154 (0,681) mg/g ekstrak) memiliki kandungan senyawa fenolik lebih banyak dibandingkan ekstrak etanol (12,028 (0,526) mg/g ekstrak) dan ekstrak kloroform (2,872 (0,136) mg/g ekstrak). Data disajikan dalam Gambar 2.

Ekstrak etil asetat memiliki harga kadar fenol total lebih tinggi dibanding ekstrak etanol dan ekstrak kloroform. Kadar fenol total ekstrak etil asetat adalah 13,1536 mg/g ekstrak, hal ini

mendukung potensi sitotoksiknya, karena pada uji sitotoksitasnya ekstrak etil asetat memiliki potensi sitotoksik terbesar dibandingkan dengan ekstrak etanol dan kloroform. Kandungan fenolik ekstrak etanol relatif tinggi akan tetapi tidak menunjukkan potensi sitotoksitas. Hal ini menunjukkan bahwa senyawa fenolik bukan merupakan penanda utama potensi sitotoksik suatu ekstrak.



Gambar 2. Ekstrak etil asetat memiliki kandungan senyawa fenolik terbesar dibandingkan ekstrak etanol dan kloroform

Beberapa penelitian menunjukkan bahwa senyawa-senyawa fenolik dari

kelompok flavonoid telah terbukti mampu menghambat pertumbuhan sel kanker. Watjen membuktikan bahwa senyawa flavonoid dengan gugus fenolik seperti quercetin, myricetin, fisetin, morin, taxifolin dan rutin mampu menghambat pertumbuhan sel Rat H4IIE pada dosis rendah dan memacu terjadinya apoptosis pada konsentrasi tinggi. *Cathecin* merupakan polifenolik dalam teh yang diduga memiliki aktivitas kemoprefentif pula (7). Ekstrak etil asetat tanaman *Typhonium divaricatum* mengandung senyawa flavonoid fenolik ditunjukkan dengan pereaksi semprot sitroborat sementara dalam ekstrak etanol tidak menunjukkan adanya kandungan senyawa flavonoid (data tidak ditampilkan dan perlu dikonfirmasi ulang).

Ekstrak etanol meskipun memiliki kandungan senyawa fenolik tidak menunjukkan adanya potensi efek sitotoksik terhadap sel HeLa. Hal ini menunjukkan terdapat senyawa-senyawa fenolik dalam tanaman yang tidak memiliki aktivitas sitotoksik. Salah satu contoh adalah kelompok senyawa tannin yang banyak dijumpai dalam ekstrak akan tetapi tidak memiliki aktivitas yang spesifik (10).

KESIMPULAN

Hasil-hasil tersebut menunjukkan bahwa ekstrak etil asetat tanaman *Typhonium divaricatum* dengan kandungan senyawa fenolik 13,154 mg/g ekstrak memiliki potensi sitotoksik terbesar terhadap sel HeLa dengan nilai IC₅₀ 147,77 mg/mL, sementara ekstrak etanol dan ekstrak kloroform relatif tidak memiliki potensi sitotoksik. Kandungan senyawa fenolik dalam ekstrak bukan merupakan penanda utama potensi sitotoksik suatu ekstrak.

DAFTAR ACUAN

1. Greenlee, R.T., Hill-Harmon, M.B., Murray, T., Thun, M., Cancer Statistics, 2001, *CA Cancer J Clin*, 2001, 51:15-36
2. Mardiana, L., 2004, *Kanker pada Wanita: Pencegahan dan Pengobatan dengan Tanaman Obat*, edisi II, Penebar Swadaya, Jakarta, 2004, hal 20-21.
3. Anonim, Keladi Tikus, Si Pembunuh Sel Kanker, Kompas 22 Juni 2002.
4. Anonim, Typhonium Divaricatum Atasi Kanker Payudara dengan Keladi Tikus, Sinar Harapan, 31 Mei 2007
5. Kampa, M., Alexaki, I.V., Notas, G., Nifli, P.A., Nistikaki, A., Hatzoglou, A., Bakogeorgou, E., Kouimtziglou, E., Blekas, G., Boskou, D., Gravanis, A., Castanas, E., Antiproliferative and Poptotic Effects of Selective Phenolic Acids on T47D Human Breast Cancer Cells: Potential Mechanisme of Action, *Breast Cancer Res*, 2004 6(2):R63- R74
6. Surh, Y., Molecular mechanisms of chemopreventive effects of selected dietary and medicinal phenolic substances, *Mutat Res*, 1999, 428(1-2):305-27.
7. Yang, C.S., Jee Y. Chung, Guang-yu Yang, Saranjit K. Chhabra and Mao-Jung Lee, Tea and Tea Polyphenols in Cancer Prevention, *Journal of Nutrition*. 2000;130:472S-478S
8. D'Alessandro, T, Jeevan Prasain, M. R. Benton, Nigel Botting, Ray Moore, Victor Darley- Usmar, Rakesh Patel and Stephen Barnes, Polyphenols, Inflammatory Response, and Cancer Prevention: Chlorination of Isoflavones by Human Neutrophils, *Journal of Nutrition*, 2003, 133:3773S-3777S
9. Da'i, M., Aktivitas antiproliferatif Pentagamavunon-0 terhadap sel Raji, Sel HeLa dan sel Myeloma, 2003 *Thesis*, Program Pascasarjana UGM, Yogyakarta
10. VanMiddlesworth, F, and Cannelm R.J.P., Dereplication and partial identification of natural products, in *Natural Product Isolation By Cannel R.J.P.*, 1998, New Jersey, hal 288.

