

POTENSI EKSTRAK ETANOL DAUN LAMPENI (*ARDISIA ELLIPTICA*) DAN FRAKSINYA SEBAGAI AGEN ANTIPROLIFERATIF TERHADAP SEL KANKER HATI HEPG2

¹Siska A. Kusumastuti, ²Firdayani, ³Chaidir

^{1,2,3}Pusat Teknologi farmasi dan Medika LAPTIAB PUSPIPTEK Serpong, Badan Pengkajian dan Penerapan Teknologi

email: siska.a.kusumastuti@gmail.com

Abstrak. Lampeni (*Ardisia Elliptica*) merupakan tanaman Indonesia yang daunnya banyak digunakan oleh penduduk untuk mengobati penyakit kudis dan buahnya dimakan untuk mengobati penyakit jantung. Penelitian ini bertujuan mengetahui potensi ekstrak daun lampeni asal Indonesia dan fraksinya dalam menghambat perkembangan sel kanker hati. Penelitian diawali dengan melakukan ekstraksi daun lampeni dengan etanol 70% yang dilanjutkan dengan fraksinasi menggunakan pelarut heksan dan etil asetat. Crude ekstrak, fraksi heksan dan fraksi etil asetat kemudian diuji sitotoksitasnya secara *in vitro* terhadap sel kanker hati HepG2 menggunakan metode MTT ((3-[4,5-dimethylthiazol-2-yl]-2,5 diphenyl tetrazolium bromide) untuk mendapatkan nilai konsentrasi penghambatan 50 atau IC50. Hasil uji menunjukkan bahwa fraksi heksan dari ekstrak etanol 70% daun Lampeni menunjukkan nilai IC50 paling kecil yaitu 20,88 ppm, sedangkan fraksi etil asetat mempunyai nilai IC50 32,45 ppm dan nilai IC50 crude ekstrak sebesar 121,71 ppm. Dari hasil ini dapat disimpulkan bahwa fraksi heksan dan etil asetat dari ekstrak etanol 70% daun Lampeni berpotensi dikembangkan menjadi agen antiproliferatif terhadap sel kanker hati.

Kata kunci: Ekstrak daun lampeni, fraksi ekstrak daun lampeni, uji sitotoksitas, IC₅₀, sel kanker hati HepG2

1. Pendahuluan

Kanker merupakan salah satu penyakit berbahaya yang mendapat perhatian berbagai pihak karena insidensinya yang terus meningkat dan angka kematian yang sangat tinggi, tidak hanya di Indonesia, tetapi juga di berbagai negara. Pada tahun 2012, sekitar 8,2 juta kematian di dunia disebabkan oleh kanker, kanker paru, hati, perut, kolorektal, dan kanker payudara adalah penyebab terbesar kematian akibat kanker setiap tahunnya. Berdasarkan data Globocan yang dirilis oleh *the International Agency for Research on Cancer* (IARC), pada tahun 2008 tercatat 748.000 kasus kanker hati yang terdiagnosis. Penyakit ini merupakan kanker dengan angka kematian tertinggi ketiga dengan 696.000 pasien meninggal dunia setiap tahunnya. Lebih dari 85% kasus tersebut terjadi di negara-negara berkembang, termasuk Indonesia. Di Indonesia diperkirakan terdapat 13.238 kasus kanker hati dengan angka kematian mencapai 12.825 jiwa. Angka ini diperkirakan akan terus naik seiring dengan meningkatnya prevalensi penderita hepatitis B dan C yang saat ini mencapai 30 juta jiwa. Sebanyak 50% di antaranya diperkirakan menderita penyakit hati kronik dan 10% mengalami kanker hati.

Di Indonesia, kanker menduduki peringkat ketujuh penyebab kematian. Berdasarkan Sistem Informasi RS (SIRS) pada tahun 2013, jumlah pasien rawat jalan

maupun rawat inap pada kanker payudara terbanyak yaitu 12.014 orang (28,7%), kanker serviks 5.349 orang (12,8%), kemudian kanker leukemia sebanyak 4.342 orang, limfoma 3.486 orang (10,4%), dan kanker paru 3.244 orang (7,8%). Lebih dari 30% kematian akibat kanker disebabkan oleh lima faktor risiko perilaku dan pola makan, yaitu (1) indeks massa tubuh tinggi; (2) kurang konsumsi buah dan sayur; (3) kurang aktivitas fisik; (4) penggunaan rokok; dan (5) konsumsi alkohol berlebihan.

Saat ini sudah banyak dikembangkan pengobatan untuk menyembuhkan kanker, di antaranya radioterapi, pembedahan/operasi, obat-obatan pembunuh sel kanker (kemoterapi), hormon terapi, dan imunoterapi (King, 2000). Namun, pengobatan tersebut masih belum dapat menyembuhkan kanker secara efektif serta membutuhkan biaya yang mahal dan efek samping terapi yang cukup berisiko. Penelitian dan pengembangan bahan alam sebagai agen terapi kanker sudah banyak dilakukan oleh peneliti-peneliti di seluruh dunia karena penggunaan bahan alam dirasa lebih aman, murah, dan efektif. Keanekaragaman hayati yang terdapat di Indonesia banyak menarik minat peneliti dalam dan luar Indonesia untuk meneliti dan mengembangkan tanaman Indonesia yang berpotensi sebagai agen antikanker, salah satunya adalah lampeni (*Ardisia elliptica*).

Lampeni (*Ardisia elliptica*) merupakan salah satu tanaman yang ada di Indonesia dan tersebar di beberapa daerah di Indonesia, yaitu Jawa, Sumatra, Sulawesi, dan Maluku. Tumbuhan ini berbentuk semak belukar atau pohon kecil yang berukuran 6 meter dan diameter pangkalnya dapat mencapai 15 cm. Tumbuhan ini memiliki batang yang kuat dengan warna kulit yang keabu-abuan. Lampeni (*Ardisia elliptica*) memiliki akar tunggang yang kuat dan percabangan yang banyak. Daunnya memiliki tekstur yang kasar dan elastis, berwarna merah muda ketika masih muda dan akan menjadi hijau gelap ketika sudah tua (Corner 1952). Di Pulau Jawa, lampeni (*Ardisia elliptica*) terdapat di kawasan cagar alam Bojonglarang Jayanti tepatnya di muara Sungai Cikawung dan muara Sungai Cisela. Di kawasan ini lampeni (*Ardisia elliptica*) tumbuh di kawasan tanah basah. Spesies ini merupakan tumbuhan yang toleran di bawah naungan dan biasanya tumbuh dibawah kanopi pohon (Dominguez dkk., 2002). Pada dasarnya Lampeni (*Ardisia elliptica*) merupakan tanaman yang sangat invasive (Center for Aquatic And Invasive Plants, 2001). Buah dan daun lampeni (*Ardisia elliptica*) dapat dimakan dan bisa menyembuhkan penyakit perut (murus) (Abdullah dkk., 2010). Selain itu, buah lampeni dapat dijadikan sebagai obat untuk menyembuhkan penyakit jantung dan daunnya untuk menyembuhkan penyakit kudis. Penelitian ini dilakukan untuk mengeksplorasi potensi antiproliferatif ekstrak etanolik daun lampeni dan fraksinya terhadap sel kanker hati HepG2 menggunakan uji sitotoksik dengan metode MTT yang didasarkan pada nilai konsentrasi penghambatan 50 (IC₅₀). IC₅₀ merupakan konsentrasi ekstrak atau sampel yang dapat menghambat pertumbuhan populasi sel kanker sebanyak 50%, semakin kecil nilai IC₅₀ maka makin toksik sampel tersebut.

2. Metode Penelitian

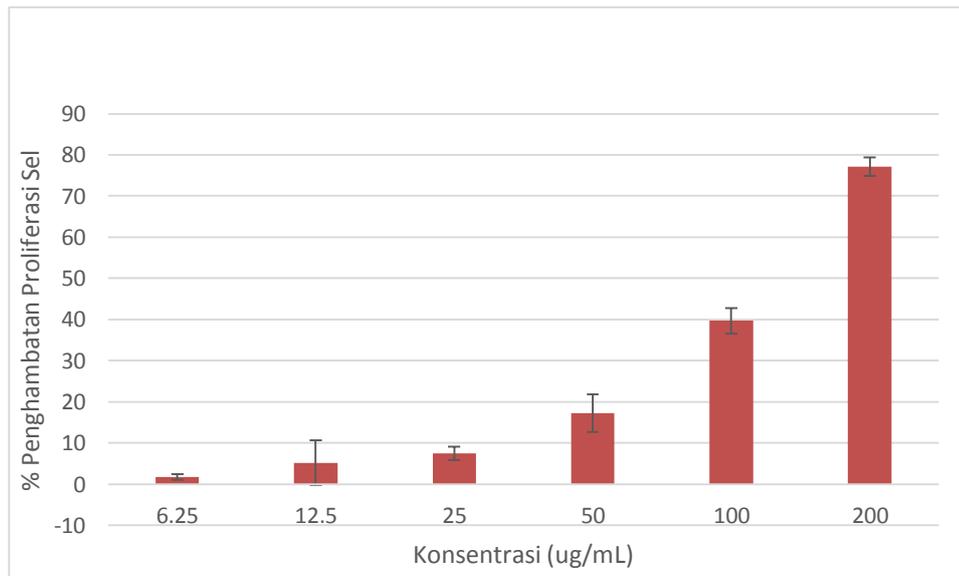
Simplisia daun lampeni, etanol 70% *analytical grade*, pelarut heksan *analytical grade*, pelarut etil asetat *analytical grade*, kultur sel Hep G2, *Roswell Park Memorial Institute* medium (RPMI), *fetal bovine serum* (FBS) 10% v/v (Gibco), penisilin-streptomisin 1% v/v (Gibco), *dimethyl sulfoxide* (DMSO), and *3-(4,5dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide* (MTT), *sodium deodecyl sulfate* (SDS). Sel kanker HepG2 ditumbuhkan dalam medium *Roswell Park Memorial Institute* medium (RPMI) yang mengandung 2 mM glutamin, 10 mM 4-[2 *hydroxyethyl*]1-piperazineethanesulfonic acid (HEPES), penicillin (100 units/mL), streptomycin (100 µg/mL) and 10% *fetal bovine serum*. Sel yang sudah dikultur kemudian diinkubasi di dalam inkubator dengan suhu 37 °C dan CO₂ 5%.

Pada penelitian ini, telah disiapkan daun tanaman lampeni (*Ardisia elliptica*) yang sudah dikeringkan. Penelitian diawali dengan maserasi simplisia daun lampeni dengan etanol 70% selama 24 jam. Sebagian filtrat yang didapat kemudian dikentalkan dengan rotavapor hingga mendapatkan ekstrak kental. Filtrat yang tersisa kemudian ditambahkan pelarut organik heksan perbandingan 1:1 dan pelarut etil asetat dengan perbandingan yang sama. Setelah dilakukan pendiaman, kentalkan dengan rotavapor hingga mendapatkan ekstrak kental. Ketiga ekstrak inilah yang kemudian diuji sitotoksitasnya.

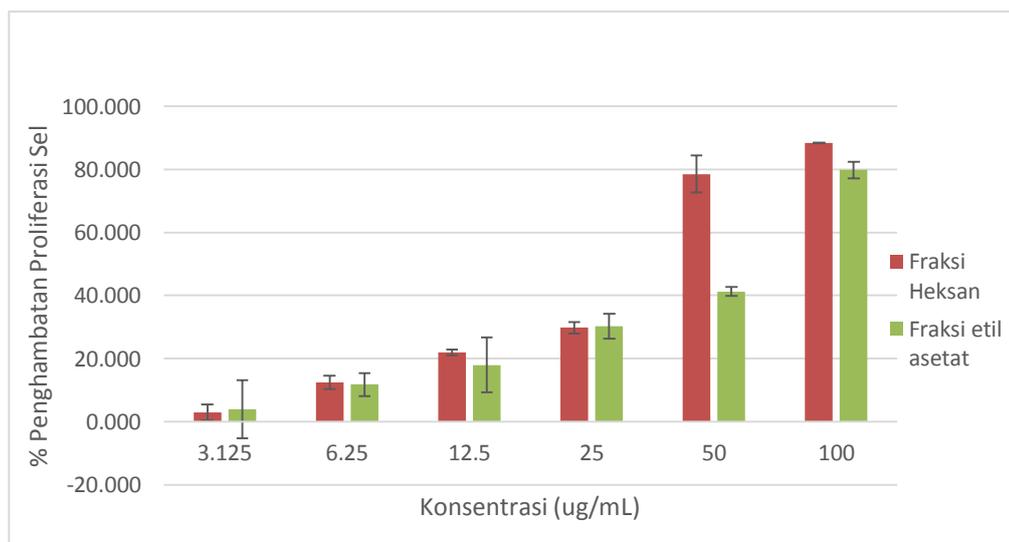
Uji sitotoksitas dilakukan dengan menggunakan sel kanker hati HepG2 yang dikultur dalam *plate* 96 sumuran selama 24 jam. *Crude* ekstrak dengan konsentrasi 200; 100; 50; 25; 12.5; 6,25 µg/mL dan fraksi heksan serta fraksi etil asetat dengan konsentrasi 100; 50; 25; 12.5; 6,25; 3,125 µg/mL ditambahkan ke dalam sumuran dengan pengulangan sebanyak 3x. Inkubasi selama 24 jam, kemudian reagen MTT 0.5 mg/mL ditambahkan ke dalam tiap sumuran dengan waktu inkubasi 4 jam yang diikuti dengan penambahan SDS *page*. Inkubasi kembali selama 24 jam dan ukur serapan pada panjang gelombang 570 nm. Hitung persentase penghambatan proliferasi dengan membandingkan absorbansi sampel dengan kontrol sel yang sudah terkoreksi dengan blanko media.

3. Hasil dan Pembahasan

Hasil uji sitotoksitas menunjukkan bahwa ketiga ekstrak, yaitu *crude* ekstrak etanol 70% daun lampeni, fraksi heksan dari ekstrak etanol 70% daun lampeni, dan fraksi etil asetat dari ekstrak etanol 70% daun lampeni menunjukkan penghambatan proliferasi yang ditunjukkan dengan persentase penghambatan yang semakin besar seiring dengan meningkatnya konsentrasi (*dose dependent manner*) (Gambar 1 dan 2). Hal ini menunjukkan bahwa semakin tinggi dosis ekstrak yang diberikan maka akan semakin banyak sel kanker yang mati.



Gambar 1 Persentase penghambatan proliferasi ekstrak etanol 70% Daun Lampeni terhadap sel kanker hati HepG2 dengan konsentrasi 200; 100; 50; 25; 12,5; 6,25 µg/mL



Gambar 2 Persentase penghambatan proliferasi fraksi heksan dan etil asetat dari ekstrak etanol 70% daun lampeni terhadap sel kanker hati HepG2 dengan konsentrasi 100; 50; 25; 12,5; 6,25; 3,125 µg/mL

Absorbansi yang didapat pada tiap konsentrasi kemudian dibuat kurva regresi antara konsentrasi dan persentase penghambatan proliferasi sehingga didapat persamaan regresi yang selanjutnya digunakan untuk mendapatkan nilai penghambatan 50 (IC₅₀). Hasil perhitungan menunjukkan fraksi heksan mempunyai penghambatan 50 (IC₅₀) paling kecil yaitu 20,88 ppm, sedangkan fraksi etil asetat dan *crude* ekstrak menunjukkan nilai IC₅₀ sebesar 32,45 ppm dan 121,71 ppm (Tabel 1).

Tabel 1 Persentase Penghambatan Proliferasi dan IC₅₀ Ekstrak Etanol 70% Daun Lampeni, Fraksi Heksan dari Ekstrak Etanol 70% Daun Lampeni, Fraksi Etil Asetat dari Ekstrak Etanol 70% Daun Lampeni

Sampel	Kons (ug/mL)	Rata-rata % Penghambatan Proliferasi	SD	IC50 (ug/mL)
Lampeni fraksi heksan	3.125	2.981	2.528865	20.88
	6.25	12.415	2.041924	
	12.5	21.924	0.915046	
	25	29.773	1.830091	
	50	78.528	5.887155	
Lampeni fraksietil Asetat	100	88.377	0.130721	32.45
	3.125	3.886	9.157224	
	6.25	11.735	3.696765	
	12.5	17.981	8.725431	
	25	30.264	3.868983	
Ekstrak lampeni	50	41.245	1.391118	121.71
	100	79.849	2.669395	
	6.25	-0.937	0.675341	
	12.5	5.199	5.413485	
	25	7.463	1.596503	
	50	17.191	4.578335	
	100	39.688	3.076247	
	200	77.078	2.241946	

Suatu ekstrak dikatakan toksik bila mempunyai nilai IC₅₀ kurang dari 100 ug/mL sehingga dari hasil uji dapat disimpulkan bahwa *crude* ekstrak bersifat tidak toksik terhadap sel HepG2, sedangkan fraksi heksan dan etil asetat bersifat toksik terhadap sel kanker hati HepG2. Fraksi heksan mempunyai nilai IC₅₀ paling kecil sehingga fraksi ini mempunyai sifat toksik yang paling besar dibanding dengan ekstrak yang lainnya. Proses fraksinasi menyebabkan pemindahan senyawa-senyawa yang bersifat nonpolar yang terkandung dalam *crude* ekstrak ke pelarut heksan dan senyawa-senyawa yang bersifat semipolar ke pelarut etil asetat sehingga akan menyebabkan perbedaan kandungan senyawa kimia yang terdapat dalam ekstrak masing-masing. IC₅₀ fraksi heksan yang mempunyai nilai paling kecil menunjukkan bahwa di dalam ekstrak tersebut mengandung lebih banyak golongan senyawa kimia yang bersifat toksik seperti golongan alkaloid dan flavonoid sehingga dapat memicu lebih banyak kematian sel kanker hati HepG2. Hasil ini juga membuktikan bahwa proses fraksinasi yang dilakukan berlangsung secara efektif. Penelitian ini merupakan penelitian awal dan perlu dilanjutkan dengan isolasi fraksi dengan menggunakan kolom dan penelusuran mekanisme kematian sel baik melalui pengamatan apoptosis maupun penghambatan siklus sel menggunakan *flowcytometri*.

4. Simpulan

Berdasarkan hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa fraksi heksan dan fraksi etil asetat dari ekstrak etanolik 70% daun lampeni bersifat toksik terhadap sel kanker hati HepG2 dan mempunyai ketoksikan lebih besar jika dibandingkan dengan

crude ekstrak etanolik 70% daun lampeni sehingga ekstrak ini berpotensi dikembangkan sebagai agen antiproliferatif terhadap sel kanker hati.

Daftar Pustaka

- Butler R. Pengetahuan Tanaman Obat-Obatan Penduduk Asli. 2006
<http://www.trulyjogja.com>
- Castell JV, Lechon M G., In Vitro Methods in Pharmaceutical Research. California: Academic Press, San Diego; 1997
- Da'i M. Uji Aktivitas Antiproliferatif Pentagamavunon-O Terhadap Sel Raji, Sel HeLa, dan Sel Myeloma, Tesis, Fakultas Farmasi UGM, Yogyakarta; 2003.
- Doyle A, Griffiths JB. Cell and Tissue Culture For Medical Research, New York : John Willey and Sons Ltd; 2000
- Fox M. Cancer deaths declining in U.S, United States: Reuters Health; 2007.
- Franks LM, Teich NM. Introduction to the Cellular and Molecular of Cancer, Third Ed. New York: Oxford University Press; 1997.
- Freimoser FM, Jakob CA, Aebi M, Tuor U. The MTT [3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-2,5-Diphenyltetrazolium Bromide] Assay Is a Fast and Reliable Method for Colorimetric Determination of Fungal Cell Densities, Applied and environmental microbiology. 1999: **65(8)**; 3727-9.
- Hanahan D, Weinberg RA. The Hallmark of Cancer, Cell. 2000: **100**; 57-70.
- Harborne JB. Metode Fitokimia, Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan. Bandung: Penerbit ITB; 1987
- Haridas V, Mujoo K, Hoffmann JJ, Wachter GA, Hutter LK, Lu Y ,Blake ME, Jayatilake GS, Bailey D, Mills GB, Gutterman JU. Triterpenoid Saponins from *Acacia victoriae* (Benth) Decrease Tumor Cell Proliferation and Induce Apoptosis, Cancer Research. 2001: **61**; 5486-90.
- Hartwell JL. Plant Used Against Cancer, Lioydia: a Survey; 1971; 30-34.
- Jacobz. Tumbuhan berkhasiat obat sebagai obat. Jakarta: KTO Karyasari; 2003.
- King RJB. Cancer Biology, 2nd ed. London: Pearson Education Limited; 2000.
- Mosmann T. Rapid Colorimetric Assay for Cellular Growth and Survival: Application to Proliferation and Cytotoxicity Assays, Journal of Immunological Methods. 1983; **65** (1-2): 55-63 cit Itagaki, H et al., 1997, Validation study on five cytotoxicity assay, JSAAE-VII details of the MTT, 1-12.