

182

LIT

Tawangmangu

LAPORAN AKHIR PENELITIAN

**Eksplorasi, Identifikasi dan Uji Sitotoksis Tanaman Obat
serta Pengembangan Formulanya Sebagai Antikanker
Berbasis Etnobotani Medis**



Penyusun:

1. **Yuli Widiyastuti**
2. **Nita Etikawati**
3. **Sari Haryanti**

**BALAI BESAR LITBANG TANAMAN OBAT DAN
OBAT TRADISIONAL**

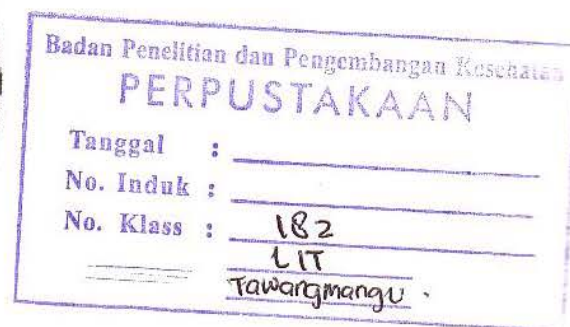
BADAN LITBANG KESEHATAN, KEMENTERIAN KESEHATAN

Jl. Raya Lawu, 11 Tawangmangu, Karanganyar, Jawa Tengah

TAHUN 2011

LAPORAN AKHIR PENELITIAN

Eksplorasi, Identifikasi dan Uji Sitotoksis Tanaman Obat serta Pengembangan Formulanya Sebagai Antikanker Berbasis Etnobotani Medis



Penyusun:

1. Yuli Widiyastuti
2. Nita Etikawati
3. Sari Haryanti

**BALAI BESAR LITBANG TANAMAN OBAT DAN
OBAT TRADISIONAL**

BADAN LITBANG KESEHATAN, KEMENTERIAN KESEHATAN

Jl. Raya Lawu, 11 Tawangmangu, Karanganyar, Jawa Tengah

TAHUN 2011



KEMENTERIAN KESEHATAN RI

BADAN PENELITIAN DAN PENGEMBANGAN KESEHATAN

BALAI BESAR PENELITIAN DAN PENGEMBANGAN

TANAMAN OBAT DAN OBAT TRADISIONAL

Jalan Raya Lawu No. 11 Tawangmangu, Karanganyar, Surakarta, Jawa Tengah

Telepon: (0271) 697010 Faksimile: (0271) 697451

E-mail: b2p2to2t@litbang.depkes.go.id Website: <http://www.b2p2toot.litbang.depkes.go.id>

**SURAT KEPUTUSAN
KEPALA BALAI BESAR PENELITIAN DAN PENGEMBANGAN
TANAMAN OBAT DAN OBAT TRADISIONAL
BADAN LITBANG KESEHATAN
NO. HK.O3.07/3/242n/2011**

Tentang

**EKSPLORASI, IDENTIFIKASI DAN UJI SITOTOKSIS TANAMAN OBAT SERTA
PENGEMBANGAN FORMULANYA SEBAGAI ANTIKANKER BERBASIS ETNOBOTANI
MEDIS**

- MENIMBANG** :
1. Bahwa penyakit kanker merupakan dengan angka kematian tinggi, serta prevalensinya terus meningkat.
 2. Bahwa banyak tanaman obat yang secara empiris disebutkan memiliki khasiat antikanker
 3. Bahwa manfaat dan khasiat dari formula tanaman antikanker perlu dibuktikan secara ilmiah
 4. Bahwa mereka yang namanya tercantum dalam Surat Keputusan ini dipandang cukup cakap untuk melaksanakan penelitian tersebut.
- MENGINGAT** :
1. Undang-undang No. 18 Tahun 2001 tentang Sistem Nasional Penelitian, Pengembangan dan Penerapan Ilmu Pengetahuan dan Teknologi.
 2. Peraturan Pemerintah Nomor 39 Tahun 1995 tentang Penelitian dan Pengembangan Kesehatan
 3. Surat Persetujuan Pelaksanaan Penelitian No: LB.01.07/3/ /2011 tanggal Januari 2011, tentang Eksplorasi, Identifikasi Dan Uji Sitotoksik Tanaman Obat Serta Pengembangan Formulasinya Sebagai Antikanker Berbasis Etnobotani Medis.
 3. Daftar Isian Pelaksanaan Anggaran Balai Besar Litbang Tanaman Obat dan Obat Tradisional tahun Anggaran 2010, No. 0156/024-11.2/XIII/2011 tanggal 31 Desember 2010, Program Penelitian dan Pengembangan Kesehatan Ilmu Pengetahuan dan Teknologi.

MEMUTUSKAN

MENETAPKAN

- Pertama** :
1. Ketua Pelaksana : Yuli Widiyastuti, MP.
 2. Peneliti : Nita Etikawati, M.Si
Drs. Joko Santosa
DR. Agus Susatya, M.Sc
Sari Haryanti, M.Sc
 3. Pembantu Peneliti : Suwarni
Lilik Mujiyanto, S.Sos
Darsono
Sujarto
Kamino



KEMENTERIAN KESEHATAN RI

BADAN PENELITIAN DAN PENGEMBANGAN KESEHATAN

BALAI BESAR PENELITIAN DAN PENGEMBANGAN TANAMAN OBAT DAN OBAT TRADISIONAL

Jalan Raya Lawu No. 11 Tawangmangu, Karanganyar, Surakarta, Jawa Tengah

Telepon: (0271) 697010 Faksimile: (0271) 697451

E-mail: b2p2to2t@litbang.depkes.go.id Website: http://www.b2p2toot.litbang.depkes.go.id

- Kedua : Tim bertugas:
- Melaksanakan penelitian sampai selesai dengan menyerahkan laporan kepada Kepala Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Tanaman Obat dan Obat Tradisional sesuai dengan Surat Persetujuan Pelaksanaan Penelitian.
 - Membuat pertanggung jawaban penggunaan anggaran sesuai ketentuan yang berlaku.
- Ketiga : Semua pengeluaran untuk pelaksanaan Surat Keputusan ini dibebankan pada DIPA Balai Besar Litbang Tanaman Obat dan Obat Tradisional tahun anggaran 2011 sesuai peraturan yang berlaku.
- Keempat : Surat Keputusan ini berlaku sejak tanggal 1 Februari 2011 sampai dengan 31 Desember 2011, dengan catatan segala sesuatu akan ditinjau kembali apabila di kemudian hari ternyata terdapat kekeliruan dalam penetapan ini.

Ditetapkan di : Tawangmangu
Pada Tanggal : 8 Februari 2011

A.n. Kepala Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan
Kepala Balai Besar Litbang Tanaman Obat dan
Obat Tradisional



REPUBLIC OF INDONESIA
RIPK 10050810 197712 2001

Surat Keputusan ini disampaikan Kepada Yth:

- Kepala Badan Litbang Kesehatan, Kemenkes RI
- Inspektur Jenderal Kemenkes RI
- Sekretaris Jenderal Kemenkes RI
- Dekan Fakultas Biologi Universitas Gadjah Mada
- Kepala Biro Keuangan dan Pertengkapan Set. Jend. Kemenkes RI
- Kepala Kantor Pelayanan Perbendaharaan Negara Sragen
- Bendahara Pengeluaran Balai Besar Litbang Tanaman Obat dan Obat Tradisional
- Yang bersangkutan



KEMENTERIAN KESEHATAN RI

BADAN PENELITIAN DAN PENGEMBANGAN KESEHATAN

BALAI BESAR PENELITIAN DAN PENGEMBANGAN

TANAMAN OBAT DAN OBAT TRADISIONAL

Jalan Raya Lawu No. 11 Tawangmangu, Karanganyar, Surakarta, Jawa Tengah

Telepon: (0271) 697010 Faksimile: (0271) 697451

E-mail: b2p2to2y@litbang.depkes.go.id Website: http://www.b2p2toot.litbang.depkes.go.id

LAMPIRAN KEPUTUSAN KEPALA BALAI BESAR PENELITIAN DAN PENGEMBANGAN TANAMAN OBAT DAN OBAT TRADISIONAL NO. HK.03.07/3/242n/2011

TENTANG PENELITIAN:

EKSPLOKASI, IDENTIFIKASI DAN UJI SITOTOKSIS TANAMAN OBAT SERTA PENGEMBANGAN FORMULANYA SEBAGAI ANTIKANKER BERBASIS ETNOBOTANI MEDIS

Rincian Honorarium Ketua Pelaksana, Peneliti dan Pembantu Peneliti tahun 2011 adalah sebagai berikut:

No	N A M A	JABATAN FUNGSIONAL	URAIAN TUGAS	HONOR/JAM (Rp)
1	Yuli Widiyastuti, MP.	Peneliti Madya/Gol IV	Ketua Pelaksana	40.000,-
2	Nita Etikawati, M.Si	Peneliti/Gol III	Peneliti	27.500,-
3	Drs. Joko Santosa	Peneliti/Gol III	Peneliti	27.500,-
4	DR. Agus Susatya, M.Sc	Peneliti/Gol III	Peneliti	27.500,-
5	Sari Haryanti, M.Sc	Peneliti/Gol III	Peneliti	27.500,-
5	Suwarni	Litkayasa/Gol III	Pembantu Peneliti	20.000,-
7	Lilik Mujiyanto, S.Sos	Litkayasa/Gol III	Pembantu Peneliti	20.000,-
8	Sujarto	Litkayasa/Gol III	Pembantu Peneliti	20.000,-
9	Darsono	Staf Yanlit	Pembantu Peneliti	20.000,-
10	Kamino	Staf TU	Administrasi	20.000,-

Sesuai dengan DIPA No. 0811/024-11.2.01/13/2011 tanggal 20 Desember 2011 dan Perdirjen No. Per-66/PB/2005 tentang Mekanisme Pelaksanaan Pembayaran Atas Beban Anggaran Pendapatan dan Belanja Negara, dan Perdirjen No Per-11/PB/2011 tentang Perubahan atas Perdirjen No Per-66/PB/2005, yang bersangkutan berhak menerima honor yang terkait dengan operasional satuan kerja sebesar tersebut pada tabel diatas.



KATA PENGANTAR

Puji syukur kami panjatkan ke hadirat Tuhan Yang Maha Esa, karena atas limpahan rahmatNya maka buku laporan hasil penelitian “Eksplorasi, Identifikasi dan Uji Sitotoksis Tanaman Obat dan Pengembangan Formulanya sebagai Antikanker Berbasis Etnomedisin” ini bisa terwujud. Penelitian ini bertujuan untuk memperoleh formula jamu anti-kanker yang berasal dari informasi etnomedisin.

Terlaksananya penelitian sampai selesainya laporan ini tidak lepas dari dukungan dan bantuan dari berbagai pihak. Untuk itu pada kesempatan ini kami ingin mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada:

1. Kepala Badan Litbang Kesehatan yang telah memberikan ijin sehingga penelitian ini bisa terlaksana
2. Kepala Balai Besar Litbang Tanaman Obat dan Obat Tradisional yang telah memberikan bimbingan dan arahan sehingga pelaksanaan penelitian sampai selesainya laporan ini bisa berjalan dengan baik
3. Anggota Komisi Ilmiah dan Komisi Etik Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan yang telah memberikan banyak masukan khususnya dalam penyempurnaan protokol penelitian,
4. Semua anggota peneliti yang terlibat mulai dari persiapan, pelaksanaan sampai penyusunan laporan ini,
5. Semua staf Peneliti dan Teknisi Litkayasa di Balai Besar Litbang Tanaman Obat dan Obat Tradisional yang telah banyak memberikan bantuan sehingga penelitian ini dapat berjalan yang tidak bisa saya sebut satu persatu.

Akhir kata penyusun berharap laporan ini dapat memberi manfaat bagi pengembangan ilmu pengetahuan khususnya dalam upaya pencarian formula herbal anti-kanker. Penyusun menyadari bahwa laporan ini masih jauh dari sempurna sehingga kritik dan saran yang membangun sangat penyusun harapkan.

Tawangmangu, Januari 2012

Penyusun

EKSPLORASI, IDENTIFIKASI DAN UJI SITOTO KESIS TANAMAN OBAT SERTA PENGEMBANGAN FORMULANYA SEBAGAI ANTIKANKER BERBASIS ETNOBOTANI MEDIS

RINGKASAN EKSEKUTIF

Kanker berada pada urutan ke dua penyebab kematian di dunia setelah penyakit jantung; menurut American Cancer Society, 25% kematian di Amerika disebabkan kanker, pada tahun 2007 diperkirakan 559.650 atau sekitar 1500 per hari warga Amerika meninggal karena kanker. Jenis kanker yang paling banyak diderita wanita adalah kanker payudara (26% dari seluruh kasus kanker), dan 15% dari kasus tersebut berakhir dengan kematian (Jemal *et al*, 2007) Pengembangan terapi yang komprehensif untuk mengatasi kanker payudara sangat diperlukan untuk menekan jumlah kematian penderita. Pengembangan terapi ini diharapkan juga mampu mengatasi resistensi terhadap agen kemoterapi konvensional yang telah ada saat ini.

Selain dikenal dengan kekayaan biodiversitas yang tinggi, Indonesia dikenal dunia karena keaneka ragaman budaya sebagai perwujudan dari keaneka ragaman suku atau etnis yang ada. Lebih kurang 400 suku bangsa tinggal di wilayah Indonesia dari Sabang sampai Merauke. Masing-masing etnis di Indonesia memiliki kearifan lokal yang spesifik akibat interaksinya dengan wilayah dengan iklim yang beragam. Kearifan lokal ini menghasilkan kemampuan dalam mengelola sumber daya lokal untuk berbagai keperluan termasuk obat-obatan. Di wilayah Bengkulu dikenal kayu tujuh lapis, simbar otak dan bunga raflesia yang digunakan untuk pengobatan kanker oleh Batra setempat (Fauzi, 2006), dari wilayah TNKS diketahui ada cemara sumatra, kayu gadis dan kayu kuning secara empiris digunakan untuk pengobatan tumor. Saat ini terjadi kecenderungan masyarakat menggunakan pengobatan tradisional untuk mengatasi kanker dan tumor secara mandiri berdasarkan informasi yang diperoleh melalui media massa. Daun sirsat, takokak, bidara upas, keladi tikus dan duri tujuh merupakan sebagian dari tanaman obat yang digunakan untuk pengobatan kanker dan tumor. Sebagian masyarakat yang merasakan manfaat pengobatan kanker dan tumor

dengan tanaman obat tersebut banyak yang memberikan testimoni di media massa sehingga akhirnya mempengaruhi masyarakat dalam memilih cara pengobatan kanker dan tumor.

Sehubungan dengan itu dilakukan penelitian eksplorasi, identifikasi dan uji sitotoksis tanaman obat serta pengembangan formulanya sebagai antikanker berbasis etnobotani medis. Penelitian dilakukan dengan metode eksperimental dan observasi, yang dilaksanakan di laboratorium B2P2TO2T. Tahap pertama adalah eksplorasi tanaman obat yang secara empiris oleh masyarakat digunakan untuk pengobatan tumor atau kanker, selanjutnya dilakukan skrining sitotoksik masing-masing tanaman obat dan pengembangan formulanya. Jika formula ini potensial untuk dikembangkan maka dilanjutkan penelitian tahap II yaitu uji mekanisme aksi formula tersebut di tingkat molekuler, uji antikanker pada binatang dilanjutkan observasi klinik. Hasil yang diharapkan adalah ditemukan alternatif pengobatan kanker dari obat herbal tradisional yang terbukti aman, bermutu dan berkhasiat.

Dari hasil penelitian diketahui bahwa dari hasil skrining sitotoksisitas beberapa tanaman obat yang secara empiris digunakan oleh masyarakat untuk pengobatan tumor dan kanker, hanya beberapa yang menunjukkan aktivitas sitotoksisitas terhadap sel line kanker. Selanjutnya dari berbagai formula yang dikembangkan hanya beberapa formula saja yang memiliki aktivitas sitotoksisitas yang tinggi. Formula bidara upas, daun sirsat dan takokak, menunjukkan aktivitas penghambatan terhadap pertumbuhan sel line kanker yang paling tinggi. Sehingga dapat disimpulkan bahwa formula bidara upas, takokak dan daun sirsat, memiliki potensi untuk dikembangkan sebagai herbal antikanker. Untuk mengetahui senyawa-senyawa yang berperan dalam aktifitas tersebut perlu dilakukan penelitian lebih lanjut dan juga uji aktivitasnya di tingkat molekuler baik secara *in vitro* maupun *in vivo*.

EKSPLORASI, IDENTIFIKASI DAN UJI SITOTOKSIS TANAMAN OBAT SERTA PENGEMBANGAN FORMULANYA SEBAGAI ANTIKANKER BERBASIS ETNOBOTANI MEDIS

ABSTRAK

Kanker merupakan penyebab kematian tertinggi di dunia. Bahan alam kini semakin banyak diteliti untuk pengobatan kanker karena cenderung lebih aman untuk dikonsumsi. Obat yang memiliki efek anti kanker, anti mutagenik dan sekaligus dapat meningkatkan sistem imun dalam tubuh sangatlah diperlukan. Obat kanker yang ideal ini belum ditemukan sampai sekarang sehingga usaha pencarian obat-obatan baik untuk mencegah maupun mengobati kanker masih terus dilakukan.

Indonesia dikenal kaya akan keaneka ragam etnis yang masing-masing memiliki kearifan lokal dalam pemanfaatan tanaman obat untuk kesehatan dan pengobatan termasuk untuk penyakit tumor dan kanker. Di daerah Bengkulu dikenal secara luas tanaman kayu tujuh lapis, simbar obat dan raflesia yang secara empiris digunakan untuk mengobati kanker, cemara sumatra, kayu gadis dan kayu kuning dari Jambi TNKS juga digunakan oleh Battra lokal untuk menyembuhkan kanker. Selain itu akhir-akhir ini banyak tanaman obat digunakan oleh masyarakat untuk anti-kanker dan terekspose melalui media massa, seperti takokak, bidara upas, daun sirsat, duri tujuh dan keladi tikus. Namun demikian banyak tanaman obat tersebut serta ramuannya belum pernah dilakukan uji sitotoksitas terhadap sel kanker.

Untuk itu dilakukan penelitian eksplorasi, identifikasi dan uji sitotoksik tanaman obat serta pengembangan formulanya untuk anti-kanker berbasis etnobotani medis. Penelitian menggunakan metode eksploratif dan eksperimental di Laboratorium Balai Besar Litbang Tanaman Obat dan Obat Tradisional mulai bulan Maret sampai Desember 2011. Sebagai variabel bebas adalah jenis tanaman obat dan formula anti-kanker, sedangkan variabel tergantung adalah nilai IC_{50} dari hasil uji sitotoksitas ekstrak dan formula ekstrak tanaman obat.

Dari hasil penelitian diketahui bahwa semua tanaman obat yang secara empiris digunakan untuk pengobatan tumor atau kanker oleh masyarakat, semua mengandung senyawa kimia yang juga memiliki aktivitas sebagai anti-kanker. Untuk hasil uji

sitotoksitas daun sirsat, biji alpukat, buah takokak, dan bidara upas masing-masing memiliki tingkat sitotoksitas berturut-turut tertinggi berdasarkan dosis respon, yaitu 2,2845 ug/ml, 30,6123 ug/ml, 31,0156 ug/ml dan 42,4547 ug/ml. Formula IV (D) berupa campuran bidara upas: daun sirsat dan takokak dengan perbandingan 1:2:1, memberikan hasil penghambatan viabilitas sel line T47D tertinggi dengan nilai IC50 sebesar 32,7452 ug/ml.

DAFTAR ANGGOTA TIM PENELITIAN

Berdasarkan SK Nomor: HK.03.07/3/242n/2011 maka susunan Personalia Penelitian Eksplorasi, Identifikasi dan Uji Sitotoksis Tanaman Obat serta Pengembangan Formulanya sebagai Antikanker Berbasis Etnobotani Medis adalah sebagai berikut:

- Ketua Pelaksana** : Yuli Widiyastuti, MP
- Peneliti** : 1. Nita Etikawati, Msi
2. Drs. Joko Santosa, Msi.
3. Drs. Wahyudi, Msi
4. Sari Haryanti, MSc.
- Pembantu Peneliti** : 1. Suwarni
2. Lilik Mujianto, S.Sos.
3. Darsono
4. Sujarto
5. Kamino

DAFTAR ISI

	Halaman
Halaman judul	i
Kata Pengantar	ii
Ringkasan Eksekutif	iii
Abstrak	v
Daftar Anggota Tim Penelitian	vii
Daftar Isi	viii
Daftar Tabel	ix
Daftar Gambar	x
BAB I Pendahuluan	1
BAB II Metodologi Penelitian	6
BAB III Hasil dan Pembahasan	13
BAB IV Kesimpulan dan Saran	25
Halaman Pengesahan	26
Daftar Pustaka	27

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 1. Hasil analisis kandungan golongan kimia	15
Tabel 2. Nilai viabilitas sel masing-masing perlakuan dengan ekstrak methanol	16
Tabel 3. Nilai viabilitas sel masing-masing perlakuan dengan ekstrak Kloroform	20
Tabel 4. Nilai viabilitas sel masing-masing formula terhadap sel HeLa	23
Tabel 5. Nilai viabilitas sel masing-masing formula terhadap T47D	23

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1. Tumbuhan tali putri (<i>Cassytha filiformis</i>)	13
Gambar 2. Tanaman sarang semut (<i>Hydnophytum Sp.</i>)	13
Gambar 3. Tanaman alpukat (<i>Persea americana</i>)	14
Gambar 4. Tanaman sirsat (<i>Annona muricata</i>)	15
Gambar 5. Tanaman takokak (<i>Solanum torvum</i>)	15
Gambar 6. Tanaman bidara upas (<i>Merremia mammosa</i>)	16
Gambar 7. Tanaman duri tujuh (<i>Perescia corrugata</i>)	17
Gambar 8. Hasil uji sitotoksis ekstrak kloroform daun sirsat pada sel T47D ...	21
Gambar 9. Viabilitas sel T47D dengan perlakuan ekstrak kloroform daun sirsat	21
Gambar 10. Hasil uji sitotoksis ekstrak kloroform buah takokak pada sel T47D	22
Gambar 11. Viabilitas sel T47D dengan perlakuan ekstrak kloroform buah takokak	22
Gambar 12. Nilai viabilitas sel line HeLa dan T47D atas perlakuan formula herbal anti-kanker	24

I. PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Kanker berada pada urutan ke dua penyebab kematian di dunia setelah penyakit jantung. Menurut American Cancer Society, 25% kematian di Amerika disebabkan kanker. pada tahun 2007 diperkirakan 559.650 atau sekitar 1500 per hari warga Amerika meninggal karena kanker. Jenis kanker yang paling banyak diderita wanita adalah kanker payudara (26% dari seluruh kasus kanker), dan 15% dari kasus tersebut berakhir dengan kematian (Jemal *et al*, 2007). Menurut data Riskesdas 2007, prevalensi penyakit kanker yang menyerang masyarakat Indonesia terbanyak adalah kanker serviks dan kedua adalah kanker payudara (Kementerian Kesehatan, 2007).

Prevalensi penyakit kanker di dunia cenderung semakin meningkat. Laporan IARC (Badan WHO yang khusus menangani epidemiologi kanker), pada tahun 2008 telah ditemukan 12 juta kasus baru kanker. Laporan tersebut juga menyebutkan jumlah kasus kanker di dunia akan meningkat 2 kali lipat dalam 30 tahun terakhir, dan jika tidak dilakukan penanganan yang tepat akan meningkat 2 kali lipat pada tahun 2020, dan meningkat 3 kali lipat pada tahun 2030 (Johan Kurnianda, 2011).

Pengembangan terapi yang komprehensif untuk mengatasi kanker sangat diperlukan untuk menekan jumlah kematian penderita. Pengembangan terapi ini diharapkan juga mampu mengatasi resistensi terhadap agen kemoterapi konvensional yang telah ada saat ini. Saat ini banyak ahli onkologi telah mengembangkan metode pengobatan berbasis molekuler di bidang genetika onkologi. Kemajuan informasi dan teknologi di bidang genetika onkologi memberikan harapan baru tentang teknik skrining, deteksi dini, diagnosis, prognosis, dan terapi penyakit kanker (Johan Kurnianda, 2011).

Usaha pencarian obat-obatan untuk kanker terus dilakukan. **Bahan alam** semakin banyak diteliti untuk pengobatan kanker karena cenderung lebih aman untuk dikonsumsi (Anonim, 2006c) dan biasanya memiliki efek **khemoprevensi**.

Obat yang memiliki efek anti kanker sekaligus dapat meningkatkan sistem imun dalam tubuh sangatlah diperlukan. Obat kanker yang ideal ini belum ditemukan sampai sekarang sehingga usaha pencarian obat-obatan baik untuk mencegah maupun mengobati kanker masih terus dilakukan

Indonesia merupakan negara yang memiliki keanekaragaman hayati terbesar kedua di dunia setelah Brazil. Terdapat sekitar 30.000 jenis (spesies) yang telah diidentifikasi dan 950 spesies diantaranya digunakan oleh masyarakat untuk pemeliharaan kesehatan dan pengobatan, yang memiliki potensi sebagai obat, makanan kesehatan, dan *nutraceuticals*. Dengan kekayaan tersebut Indonesia berpeluang besar untuk menjadi salah satu negara terbesar dalam industri obat tradisional dan kosmetika alami berbahan baku tumbuhan yang peluang pasarnya cukup besar (Anonim, 2007).

Resistensi terhadap agen kemoterapi merupakan suatu peristiwa yang sering terjadi pada sel kanker. MCF-7 adalah salah satu model sel kanker payudara yang telah mengalami resistensi terhadap beberapa agen kemoterapi termasuk doxorubicin (Simstein *et al.*, 2003). Sehingga saat ini diupayakan pencarian senyawa aktif baru untuk pengembangan kombinasi terapi dengan suatu agen kemopreventif untuk mengatasi resistensi, meningkatkan efikasi dan mengurangi efek toksik.

Pengembangan obat kanker baru dari tanaman obat sebagai agen kemopreventif terus berjalan. Di seluruh dunia banyak hasil penelitian telah dipublikasi di berbagai jurnal tentang upaya pencarian senyawa aktif baru yang memiliki potensi sebagai agen kemopreventif. Tanaman diketahui sejak dahulu merupakan sumber obat bagi berbagai tujuan pengobatan dan pemeliharaan kesehatan termasuk untuk penanganan kanker (Hartwell, 1982). National Cancer Institute (NCI) di Amerika telah mengoleksi 35,000 sampel tanaman dari 20 negara dan telah melakukan skrining aktivitas kanker terhadap 114,000 ekstrak tanaman (Shoeb, 2006).

Di Amerika Serikat 92 jenis obat anti-kanker yang tersedia secara komersial dan digunakan di seluruh dunia serta mendapat persetujuan sebagai obat anti kanker antara tahun 1983-1994, 60% diantaranya berasal dari bahan alam (Cragg, *et al.*, 1997 dalam Shoeb, 2006). Obat yang berasal dari bahan alam diartikan sebagai

produk alami, atau derivatnya atau hasil sintesa farmasi berdasarkan model dari bahan alam (Jaspars dan Lawton, 1998 dalam Shoeb, 2006).

Beberapa contoh senyawa aktif anti-kanker yang berasal dari tanaman adalah vincristine dan vinblastine dari *Vinca rosea*. Dua senyawa aktif tersebut membuka era pengembangan obat anti-kanker dari tanaman, dimana pengembangannya melalui uji klinis sebagai anti-kanker (Cragg and Newman, 2005 dalam Shoeb, 2006). Penemuan paclitaxel[®] dari tanaman *Taxus brevifolia* merupakan contoh lain dalam program penemuan obat baru. Camptothecin dari tanaman *Camptotheca acuminata* juga berhasil ditemukan sebagai senyawa yang potensial untuk agent anti-kanker di awal tahun 70-an, meskipun akhirnya di drop akibat efek samping yang membahayakan.

Selain dikenal dengan kekayaan biodiversitas yang tinggi, Indonesia dikenal dunia karena keaneka ragaman budaya sebagai perwujudan dari keaneka ragaman suku atau etnis yang ada. Lebih kurang 400 suku bangsa tinggal di wilayah Indonesia dari Sabang sampai Merauke. Masing-masing etnis di Indonesia memiliki kearifan lokal yang spesifik akibat interaksinya dengan wilayah dengan iklim yang beragam. Kearifan lokal ini menghasilkan kemampuan dalam mengelola sumber daya lokal untuk berbagai keperluan termasuk obat-obatan. Di wilayah Bengkulu dikenal kayu tujuh lapis, simbar otak dan bunga raflesia yang digunakan untuk pengobatan kanker oleh Batra setempat (Fauzi, 2006), dari wilayah TNKS diketahui ada cemara sumatra, kayu gadis dan kayu kuning secara empiris digunakan untuk pengobatan tumor. Saat ini terjadi kecenderungan masyarakat menggunakan pengobatan tradisional untuk mengatasi kanker dan tumor secara mandiri berdasarkan informasi yang diperoleh melalui media massa. Daun sirsat, takokak, bidara upas, keladi tikus dan duri tujuh merupakan sebagian dari tanaman obat yang digunakan untuk pengobatan kanker dan tumor. Sebagian masyarakat yang merasakan manfaat pengobatan kanker dan tumor dengan tanaman obat tersebut banyak yang memberikan testimoni di media massa sehingga akhirnya mempengaruhi masyarakat dalam memilih cara pengobatan kanker dan tumor.

Di sisi lain, manfaat dan khasiat obat dari formula tanaman obat tersebut secara ilmiah belum banyak dilakukan. Dengan demikian perlu kiranya dilakukan

penelitian terutama terhadap khasiat ramuan tanaman obat tersebut sebagai antikanker. Dengan mengetahui khasiat obat suatu tanaman maka secara tidak langsung dapat meningkatkan **nilai ekonomi** tanaman tersebut serta diperolehnya sumber **obat baru**.

B. Masalah Penelitian

Dari berbagai informasi terkait pemanfaatan tanaman obat untuk pengobatan kanker yang dilakukan oleh masyarakat dan dipercaya secara empiris terbukti berkhasiat, maka timbul pertanyaan

1. Apakah tanaman obat yang secara empiris oleh masyarakat digunakan sebagai jamu/herbal anti-tumor atau anti-kanker memiliki khasiat sebagai anti-kanker secara *in vitro*?
2. Tanaman obat apa saja yang telah digunakan oleh masyarakat tersebut yang memiliki potensi untuk dikembangkan sebagai jamu/herbal anti-kanker?
3. Formula jamu apa yang memiliki potensi sebagai jamu/herbal anti-kanker?

C. Tujuan

Tujuan Umum : diperolehnya kandidat formula jamu/herbal antikanker baru yang poten

Tujuan khusus :

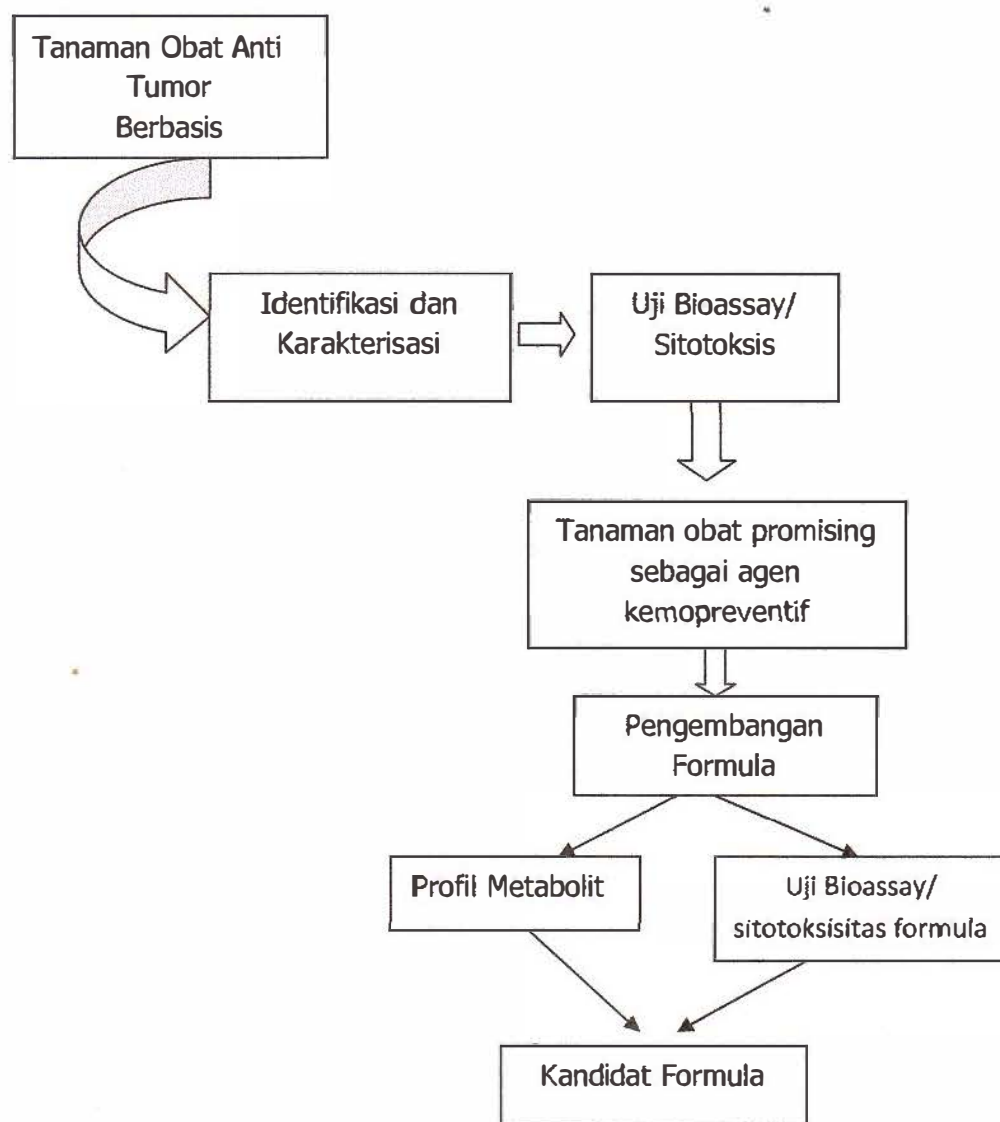
1. Identifikasi botani dan profil kandungan kimia tanaman obat yang secara empiris digunakan oleh masyarakat untuk pengobatan kanker
2. Menentukan aktivitas sitotoksik ekstrak tanaman terhadap *cell line* : T47D secara *in vitro*
3. Mengembangkan formula jamu anti kanker dari tanaman obat yang secara empiris digunakan untuk pengobatan tumor dan kanker
4. Menentukan aktivitas sitotoksik ramuan jamu terhadap *cell line* : sel T47D secara *in vitro*

D. Manfaat Penelitian

Diperoleh informasi tentang khasiat tanaman obat dan formula jamu anti kanker terutama aktivitas sitotoksik sehingga diharapkan dapat diketemukan senyawa antikanker baru yang poten.

II. METODOLOGI PENELITIAN

1. Kerangka Konsep



2. Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan di laboratorium Balai Besar Litbang Tanaman Obat dan Obat Tradisional Tawangmangu

3. Desain Penelitian

Penelitian dilakukan dengan menggunakan RAL dengan 3 ulangan

4. Jenis Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian deskriptif dan eksperimental

5. Sampel

Sampel diambil dari Taman Nasional Kerinci Seblat, Kebun Raya Cibodas dan Taman nasional Purwodadi Jawa Timur

6. Cara pemilihan dan Estimasi Sampel

Sampel diambil secara langsung dari lapangan dan dari bagian tanaman yang digunakan.

7. Analisis Data

Uji sitotoksitas. Data yang diperoleh dievaluasi untuk memperoleh nilai IC_{50} dengan metode analisis statistik regresi, yaitu dengan mensubstitusikan harga probit persen kematian sel 50% (probit 5) kedalam persamaan garis regresi.

Penentuan golongan fraksi paling toksik. Data yang diperoleh dievaluasi menggunakan metode analisis statistik regresi.

8. Kriteria Inklusi dan Eksklusi Sampel

-

9. Variabel

- Variabel bebas adalah dosis ekstrak dari tanaman obat dan ramuan
- Variabel tergantung adalah nilai IC_{50} , kadar ekstrak, kandungan golongan kimia, profil metabolit sekunder

10. Cara Pengumpulan Data

- Data sitotoksitas diperoleh dari uji sitotoksitas terhadap sel kanker payudara secara *in vitro* : sel T47D.
- Penentuan golongan senyawa aktif dilakukan dengan skrining kandungan golongan kimia terhadap ekstrak etanol masing-masing simplisia tanaman obat yang digunakan.

11. Bahan dan Cara Kerja

1. Bahan dan Alat

- a. **Bahan utama:** akar simbar otak (*Hydnophytum Sp.*), herba duri tujuh (*Pereskia corrugata*), bidara upas (*Merremia mammosa*), biji alpukat (*Persea gratissima*), daun sirsat (*Annona murricata*), herba tali putri (*Cassytha filiformis*), biji takokak (*Solanum torvum*), dan sel line kanker payudara T47D.
- b. **Bahan kimia:** Kit sitotoksisitas (Sigma); T47D, sel Hella dan MCF7; DMEM, aquabides, EMEM, media penumbuh mengandung growth factor 10% fetal bovine serum (FBS), 2% antibiotik penicillin-streptomisin, DMSO, Natrium karbonat, kertas saring 0,2 μ m, tripsin, Phospat Buffer saline (PBS), larutan 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5 difeniltetrazolium bromida (MTT), larutan 10% sodium dodecyl sulphate (SDS), isopropanol, asam asetat, doxorubicin. Media: Vogel-Bonner, top agar, pelat ampisilin, pelat ampisilin-tetrasiklin, pelat glukosa minimal, nutrient agar, nutrient broth No.2 (oksid). Ampisilin trihidrat, tetrasiklin, d-biotin, l-histidin, kristal violet, magnesium sulfat, asam sitrat monohidrat, buffer fosfat, 4-nitrokuinolin- N-oksida., vaksin dan akuades; RPMI, FBS, Giemsa 20%, SDS serta bahan kimia untuk ekstraksi dan pemurnian senyawa bioaktif.

b. Alat:

Seperangkat alat yang digunakan adalah oven, seperangkat alat maserasi, dan alat-alat gelas pada umumnya. Alat uji antikanker adalah elektroforesis, Spektrofotometer UV, mikroskop fluoresens, mikroskop inverted, ELISA reader, vorteks.

Tabung conical steril (IWAKI), CO2 inkubator 37°C 5% (Nuair), mikropipet (Gilson), hemositometer (New Bauer), mikroskop inverted (Olympus), sentrifus (Sigma), cell counter, kamera, lemari es dengan suhu 4°C, tabung eppendorf, blue tip, yellow tip, dan tissue culture flask (nunclone), alat-alat gelas yang digunakan di laboratorium yang telah disterilkan. Inkubator CO2 (Heraeus), mikroplate 24 dan 96 well (Nunc), sentrifus eppendorf (Sorfall MC 12 V, Dupont), eppendorf tubes, laminar airflow hood (Labquib), hemositometer (Nebauer), inverted microscope (Olympus), mikropipet

(Eppendorf), timbangan Sartorius, dan alat-alat gelas yang digunakan di laboratorium yang telah disterilkan.

Cara:

1. Persiapan sampel tanaman :

Sampel tanaman diambil dari TN Alas Purwo,, TN Kerinci Seblat, Kebun Raya Bogor dan TN Purwodadi Jawa Timur, selanjutnya dilakukan identifikasi botani dan fitokimia. Sampel kemudian disortasi, dicuci dan di keringkan kemudian diserbuk dengan ukuran 40 mesh. Semua sampel tanaman dibuat voucher spesimennya dengan pembuatan herbarium kering dan basah dan disimpan di ruang penyimpanan spesimen.

2. Pembuatan Ekstrak sampel daun gebang dan Monitoring kandungan bioaktif Ekstrak dengan KLT

Masing-masing sampel dimasukkan tabung soxhet, ditambah 150 ml etanol 70%, diekstraksi hingga pelarut jernih (\pm 8 jam), sehingga didapatkan ekstrak ethanol dan ampas. Ekstrak dikeringanginkan sampai semua etanol menguap sempurna, ampas dikeringkan dan selanjutnya disokhlet dengan 150 ml metanol hingga pelarut jernih (8 jam), sehingga didapatkan ekstrak metanol dan ampas. Ekstrak dikeringanginkan hingga metanol menguap sempurna, ampas dikeringkan dan selanjutnya direndam dalam tabung erlemeyer dengan 80 ml akuades, dikocok-kocok dan didiamkan hingga 4 jam, lalu disaring dengan kertas saring. Ekstrak air dikeringkan diatas *waterbath* hingga air menguap sempurna. Ekstrak dari bagian pangkal, tengah dan ujung dicampur, ditimbang, dimasukkan flakon, dan disimpan dalam eksikator.

Masing-masing kandungan kimia ekstrak dimonitor dengan KLT menggunakan fase diam silika gel GF 254 dan fase gerak kloroform: etil asetat = 12 : 1, diamati dibawah sinar uv dengan λ 254 nm dan 366 nm, serta disemprot dengan Serium (IV) sulfat.

Fraksinasi ekstrak yang mempunyai potensi paling baik dilakukan dengan metode kromatografi cair hampa (*Vacuum Liquid Chromatography*), dengan fase diam serbuk silika gel 60 GF₂₅₄ dan fase gerak 6 macam elusi.

3. Uji Sitotoksitas Ekstrak kasar dengan MTT (3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide) Assay

a. Perbanyak cell line kanker

Stok cell line dari *cryogenic storage* dibiarkan mencair, kemudian dipindahkan ke dalam conical tube 15 ml, ditambahkan media sampai 10 ml. Selanjutnya disentrifuge pada 1000 rpm selama 5 menit. Supernatan dibuang dan pellet dihentakan dengan jari supaya lepas kemudian ditambahkan media kultur dan dituang dalam kultur flask. Inkubasi pada 37 °C dalam 5% CO₂ inkubator dan jika sel sudah konfluen maka sel siap digunakan (dipanen).

b. Panen sel

Kultur sel yang sudah konfluen dibuang medianya, dicuci dengan PBS, ditambahkan 500 µl trypsin 0,05%, diinkubasikan 3 menit (hingga sel terlepas), diresuspensi dengan 3 ml media, dan dipindahkan ke tabung konikal steril. Diambil 10 µl untuk dihitung jumlah selnya dengan hemocytometer dibawah mikroskop inverted. Dibuat suspensi sel yang mengandung $1,5 \times 10^4$ sel /100 µl media kultur.

c. Skrining I

Seratus mikro liter suspensi yang berisi *cell line* dalam media kultur RPMI yang mengandung $1,5 \times 10^4$ sel dimasukkan ke dalam masing-masing sumuran mikroplate 96 *well*, dan diinkubasikan selama 24 jam pada suhu 37 °C dalam 5% CO₂. Perlakuan dengan ekstrak kloroform, metanol dan air dengan konsentrasi 300; 200; 100; 50; 25 dan 12,5 µg/ml pada ketiga sampel daun gebang dengan 3 ulangan, kontrol sel dan kontrol media dan juga kontrol sel normal (sel Vero). Mikroplate diinkubasikan selama 24 jam pada suhu 37 °C dalam 5% CO₂. Selanjutnya media kultur dibuang dan dicuci dengan PBS, ditambahkan 110 µl larutan MTT (1 ml MTT dalam 10 ml Media kultur) ke dalam setiap *well* dan diinkubasikan pada suhu 37 °C dan 5% CO₂. Setelah 4

jam ditambahkan 100 μ l *stopper SDS* 10% dalam HCl 0,1 N ke dalam setiap *well* (untuk melarutkan kristal *purple formazan*). Absorbansi dibaca dengan *microplate elisa reader* pada λ 595 nm setelah dibiarkan dalam suhu kamar semalam.

Analisis hasil absorbansi digunakan untuk menghitung % kematian sel / viabilitas sel dengan rumus sebagai berikut:

- % mati = $(a - b) - (c - b) / (a - b) \times 100$
- % hidup (viabilitas) = $(c - b) / (a - b) \times 100$
- Keterangan:
 - a = absorbansi kontrol sel
 - b = absorbansi kontrol media
 - c = absorbansi sampel

e. Penentuan IC₅₀ Ekstrak Potensial

Ekstrak yang mempunyai potensi baik (dari hasil *skining*) diuji dengan seri kadar 150; 100; 50; 25; dan 5 μ g/ml. Nilai IC₅₀ ditentukan dari grafik persamaan regresi linier konsentrasi terhadap viabilitas sel, sehingga diperoleh ekstrak yang paling potensial.

4. Fraksinasi Ekstrak Potensial

Satu ekstrak yang mempunyai potensi paling baik difraksinasi dengan metode kromatografi cair hampa (*Vacuum Liquid Chromatography*), dengan fase diam serbuk silika gel 60 GF₂₅₄ dan fase gerak berbagai macam elusi.

5. Pengembangan Formula dari Ekstrak Tanaman Promising

Masing-masing fraksi ekstrak potensial (nilai IC₅₀ kurang dari 100) diformulasi. Masing-masing formula terdiri dari 3 jenis tanaman obat. Adapun formula yang disusun adalah sebagai berikut:

Formula I (A) : Takokak:daun sirsat: biji alpukat = 1:1:1

Formula II (B) : Takokak: daun sirsat: biji alpukat = 1:2:1

Formula III (C): Bidara upas:daun sirsat:takokak = 1:1:1

Formula IV (D): Bidara upas:daun sirsat: takokak = 1:2:1

Formula V (E) : Daun sirsat: biji alpukat: bidara upas: = 1:1:1

Formula VI(F) : Daun sirsat:biji alpukat: bidara upas = 1:2:1

6. Penentuan IC₅₀ Formula Ekstrak Potensial

Formula dari ekstrak yang mempunyai potensi baik (dari hasil skrining) diuji dengan berbagai seri kadar $\mu\text{g/ml}$. Nilai IC₅₀ ditentukan dari grafik persamaan regresi linier konsentrasi terhadap viabilitas sel, sehingga diperoleh ekstrak yang paling potensial.

7. Identifikasi Kandungan Kimia

Identifikasi kandungan kimia dilakukan dengan cara spot test dan TLC terhadap masing-masing tanaman obat maupun setelah jadi ramuan.

III. HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Eksplorasi Tumbuhan Anti-kanker

Hasil inventarisasi dan eksplorasi tumbuhan obat yang secara empiris digunakan oleh masyarakat adalah sebagai berikut:

1. Tali putri (*Cassytha filiformis*)



Gambar 1. Tumbuhan tali putri (*Cassytha filiformis*)

Tali putri merupakan tumbuhan terna parasit dari famili Lauraceae. Tumbuhan ini berupa terna merambat tanpa daun dan biasa menempel di pohon inang. Daerah penyebaran mulai dari tepi pantai sampai ketinggian 800 m di atas permukaan laut. Batang yang merambat atau membelit berbentuk bulat berwarna hijau, hijau kekuningan atau kuning. Bunga tersebar di batang, buah bulat, berdiameter 3-10 mm, ketika muda hijau setelah tua ungu kehitaman.

2. Sarang semut (*Hydnophytum* Sp.)



Gambar 2. Tanaman *Hydnophytum* Sp.

Sarang semut (*Hydnophytum* Sp.) merupakan tanaman epifit dari famili Rubiaceae. Tumbuhan ini dapat ditemukan tumbuh liar di hutan hujan sampai kawasan mangrove, menempel pada tumbuhan inang yang bervariasi. Ciri utama dari tumbuhan ini adalah akar yang menggelembung dan jika diiris terlihat adanya lapisan-lapisan labirin berkelok-kelok seperti sarang semut sehingga pada beberapa daerah disebut sarang semut, meskipun di Bengkulu tanaman ini lebih dikenal sebagai simbar otak kemungkinan karena bentuknya yang menyerupai otak.

3. Biji alpukat (*Persea americana*)



Gambar 3. Tanaman *Persea americana* (Alpukat)

Alpukat (*Persea americana*) lebih dikenal sebagai tanaman buah daripada sebagai tanaman obat. Tanaman ini mudah ditemukan tumbuh mulai dari daerah pantai sampai daerah pegunungan dengan ketinggian lebih dari 1.500 m di atas permukaan laut. Alpukat berupa pohon dengan tinggi mencapai 15 m, batang bulat dengan percabangan simpodial, batang kasar beralur, berwarna coklat. Daun tunggal, tersebar, bentuk lonjong, permukaan licin, hijau. Bunga majemuk, bentuk malai, di ketiak daun atau di ujung cabang, berwarna kuning. Buah alpukat berbentuk bulat, bulat telur, atau gada dengan ukuran bervariasi tergantung varietasnya. Bagian tanaman yang digunakan secara empiris untuk pengobatan tumor atau kanker adalah bijinya.

4. Daun sirsat (*Annona muricata*)

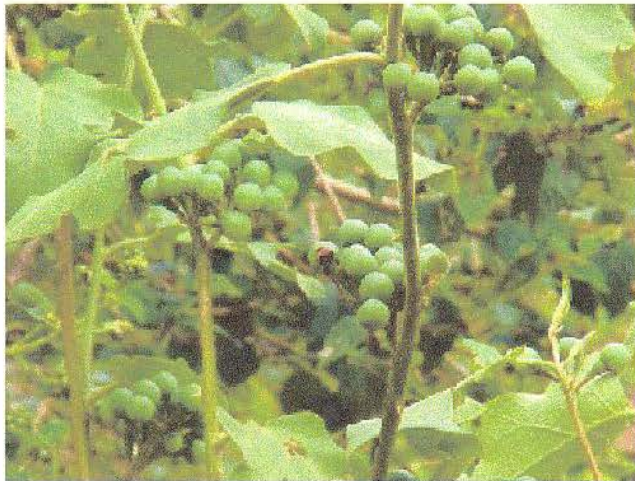
Sirsak atau sirsat (*Annona muricata*) merupakan tanaman buah tropis yang sangat dikenal oleh masyarakat. Akhir-akhir ini daun atau buah sirsat sangat

digemari oleh masyarakat karena banyak yang mengakui khasiatnya sebagai anti-kanker atau anti tumor. Tanaman ini berupa pohon atau perdu dengan tinggi mencapai 4 m, tumbuh mulai dari daerah pantai sampai ketinggian 800 m di atas permukaan laut. Sirsat termasuk ke dalam famili Annonaceae, daun tunggal letak tersebar, bentuk lonjong, kaku, dengan bau yang khas. Buah bentuk bulat telur atau bulat, kulit buah memiliki duri yang tidak tajam, berwarna hijau, jika matang berasa manis asam.



Gambar 4. Tanaman *Annona muricata* (Sirsak)

5. Takokak (*Solanum torvum*)



Gambar 5. Tanaman *Solanum torvum* (Takokak)

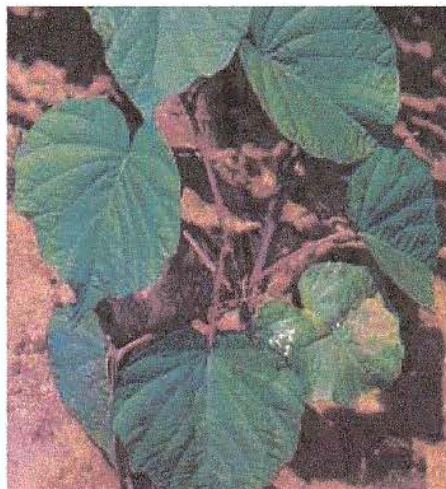
Takokak adalah tanaman obat dari famili Solanaceae yang juga dikenal sebagai tanaman sayuran. Tanaman ini berupa perdu, tumbuh tegak, tinggi 2-4 m. Daun tunggal, letak tersebar, bentuk bulat telur, tepi bergelombang, permukaan berbulu. Bunga majemuk, bentuk cawan, muncul dari ketiak daun atau di

batang, mahkota bentuk bintang, berwarna putih. Buah buni, bulat, agak keras, diameter 5-15 mm, berwarna hijau. Buah takokak secara empiris digunakan untuk mengobati kanker prostat, melancarkan buang air kecil dan untuk aprodisiak. Takokak mudah dibudidayakan dan juga sering ditemukan tumbuh liar di pinggir sungai, hutan jati, jalan dan kebun.

6. Bidara upas (*Merremia mammosa*)

Bidara upas (*Merremia mammosa*) merupakan tanaman obat yang termasuk ke dalam famili Convolvulaceae. Habitus tanaman ini berupa tera merambat, memanjat, batang membelit ke kiri, panjang mencapai 4 m, membentuk umbi. Daun tunggal, letak berseling, tangkai silindris, berwarna ungu, bentuk jantung, panjang 7-15 cm, lebar 5-10 cm, pertulangan menyirip, permukaan kasar, di bagian atas berwarna hijau, permukaan bawah daun berwarna hijau keunguan. Bunga majemuk, dalam tandan, muncul di ketiak daun, kelopak bentuk bintang, mahkota bentuk terompet, berwarna kuning, pangkal ungu. Umbi bentuk bulat, lonjong, atau kadang tidak beraturan, kulit umbi berwarna coklat, daging umbi berwarna putih, diamater umbi berkisar antara 10-30 cm.

Umbi bidara upas sering dipalsukan dengan umbi *Ipomoea digitata*, untuk mengenali secara morfologi sangat sulit, sehingga untuk pengenalan hanya berdasarkan warna umbi setelah kering, umbi bidara upas berwarna putih kehitaman, sedangkan umbi *Ipomoea digitata* berwarna putih.



Gambar 6. Tanaman *Merremia mammosa* (Bidara upas)

7. Duri tujuh (*Perescia corrugata*)

Duri tujuh (*Perescia corrugata*) merupakan tanaman obat yang berasal dari Famili Crasulaceae (sukulen). Tanaman ini dikenal luas sebagai herba anti-kanker yang dipopulerkan pertama kali di Malaysia. Habitus tanaman ini berupa perdu atau pohon kecil, tumbuh tegak, dengan tinggi mencapai 2 m atau lebih. Ciri utama tanaman ini adalah adanya duri yang sangat tajam di permukaan batangnya, yang kadang-kadang berjumlah 7 (tujuh) sehingga dikenal dengan nama duri tujuh. Daun tunggal, letak berseling, melingkar, bentuk lonjong, ujung dan pangkal runcing, permukaan licin, kalau muda berwarna hijau kemerahan, setelah tua hijau. Bunga di ujung cabang atau batang, berkarang, kelopak bentuk bintang, mahkota berpelasan, halus, berwarna orange.



Gambar 7. Tanaman *Perescia corrugata* (Duri Tujuh)

B. Analisis Kandungan Golongan Kimia

Hasil analisis kandungan golongan kimia dari tanaman obat yang secara empiris digunakan untuk antikanker adalah sebagai berikut (Tabel 1).

Analisis kandungan golongan kimia dilaksanakan dengan berpedoman pada buku Acta Manila, untuk menentukan adanya kandungan kimia tanaman obat berdasarkan golongan alkaloida, saponin, flavonoid, polifenol dan antraquinon. Penetapan kandungan golongan kimia berdasarkan golongan kandungan karena masih dalam tahap skrining bioaktivitas. Pada tahap selanjutnya jika tanaman yang diuji menunjukkan aktivitas sebagai herbal anti-kanker berdasarkan nilai penghambatan pertumbuhan sel kanker akan dilanjutkan dengan penelusuran kandungan senyawa aktif yang

bertanggung jawab terhadap mekanisme anti-kanker melalui teknik *bioassay guided fractionation*.

Tabel 1. Hasil analisis kandungan golongan kimia

No.	Nama Tanaman	Kandungan Golongan Kimia				
		Alkaloid	Saponin	Flavonoid	Polifenol	Antraquinon
1.	Tali putri	+	+	+	+	-
2.	Biji alpukat	+	+	+	+	+
3.	Sarang semut	+	+	+	+	-
4.	Daun sirsat	+	+	+	+	-
5.	Buah takokak	+	+	+	+	-
6.	Bidara upas	+	+	+	+	-
7.	Duri tujuh	-	+	+	-	-

Dari Tabel 1 dapat diketahui bahwa sebagian besar kandungan golongan kimia tanaman obat yang secara empiris digunakan oleh masyarakat untuk pengobatan tumor atau kanker mengandung sejumlah besar senyawa kimia yang juga memiliki khasiat sebagai anti-oksidan atau sebagai anti-kanker, yaitu golongan alkaloida, flavonoid dan polifenol. Hanya satu tanaman yaitu duri tujuh tidak mengandung alkaloida dan polifenol, namun mengandung flavonoid. Agent co-chemoprevensi yang dikandung oleh tanaman obat kemungkinan dapat meningkatkan efektivitas agent kemoterapi, atau juga mampu mengurangi dosis kemoterapi, sehingga berdampak pada pengurangan efek samping penggunaan kemoterapi pada terapi kanker. Agent co-kemoterapi yang potensial untuk digunakan bersama-sama dengan agent kemoterapi dalam pengobatan kanker adalah antara lain senyawa tumbuhan obat (fitokimia), yang tersedia melimpah di muka bumi (Gibbs, 2000). Sehubungan dengan itu maka eksplorasi senyawa aktif dalam tumbuhan obat guna mengetahui potensinya sebagai agen kemopreventif sangat diperlukan.

Senyawa-senyawa kimia murni yang telah digunakan untuk pengobatan kanker sampai sekarang, sebagian dikembangkan berdasarkan hasil isolasi dari tanaman obat seperti chempedak dan taxol. Senyawa kimia lain yang juga berpotensi untuk agen kemoprevensi antara lain dari golongan alkaloida, steroid glikosida, fenol dan flavonoid.

C. Hasil Uji Sitotoksis Tanaman Anti-kanker

Hasil uji sitotoksis tanaman obat disajikan pada Tabel 2:

Tabel 2. Nilai viabilitas sel masing-masing perlakuan dengan ekstrak metanol

Purata viabilitas sel T47D (%)	Konsentrasi (ug/ml)					IC ₅₀ (ug/ml)
	10	20	40	80	160	
Tali Putri	87,6828	74,5188	66,0508	55,8121	35,7969	88,1736
Biji Alpukat	125,161	147,419	88,817	7,849	10,654	54,078
Sarang semut	258,863	134,782	146,488	151,839	171,237	8625,726
Daun sirsat	34,3938	20,1633	17,6698	70,5933	18,7876	8,2265
Buah Takokak	70,027	78,613	67,847	43,937	19,754	31,0035
Bidara upas	108,027	107,438	101,552	76,131	73,868	48,993
Duri Tujuh	132,986	198,977	99,131	111,276	123,615	142,454

Dari Tabel 2 dapat diketahui bahwa hasil uji sitotoksisitas ekstrak metanol tanaman obat pada sel line T47D diperoleh nilai paling rendah adalah untuk daun sirsat. Hal ini sejalan dengan berbagai penelitian ilmiah sebelumnya yang menyebut bahwa daun sirsat memiliki potensi sebagai herbal anti-kanker. Dalam pengembangan obat-obat baru termasuk untuk anti-kanker, salah satu pendekatan yang paling efisien adalah melalui eksplorasi etnofarmakologi. Hal ini dibuktikan dalam penelitian awal melalui uji sitotoksisitas, sebagai spesies tanaman obat yang secara empiris digunakan oleh masyarakat untuk pengobatan tumor atau kanker, memiliki aktivitas penghambatan terhadap pertumbuhan sel kanker bahkan ada yang mematikan sel kanker. Tanaman obat yang potensial untuk dikembangkan sebagai bahan jamu anti-kanker berdasarkan nilai IC₅₀ ada 4 (empat) spesies yaitu tali putri (*Cassytha filiformis*), biji alpukat (*Persea gratissima*), daun sirsat (*Annona muricata*), buah takokak (*Solanum torvum*) dan bidara upas (*Merremia mammosa*).

Berdasarkan penggolongan senyawa potensial anti-kanker (agent kemopreventif) oleh American National Cancer Institute (ANCI) maka

senyawa-senyawa atau tanaman obat yang dimasukkan ke dalam kategori promising untuk tahap penelitian lanjut sebagai agent kemopreventif jika memiliki nilai IC₅₀ kurang dari 30 ug/ml (Suffness dan Pezzuto, 1990; Ahmad, *et al.*, 2010). Selanjutnya menurut Ueda (2000), agen kimia yang memiliki potensi sebagai agen sitotoksik jika memiliki nilai IC₅₀ kurang dari 100 ug/l.

Uji sitotoksik ekstrak metanol dari ke-7 spesies tanaman obat memberikan gambaran bahwa kandungan senyawa aktif yang memiliki aktivitas sitotoksik bersifat polar karena larut dalam metanol. Untuk mengetahui apakah senyawa aktif yang bersifat non polar juga memiliki aktivitas sitotoksik maka dilakukan uji sitotoksik menggunakan ekstrak kloroform seperti disajikan pada Tabel 3.

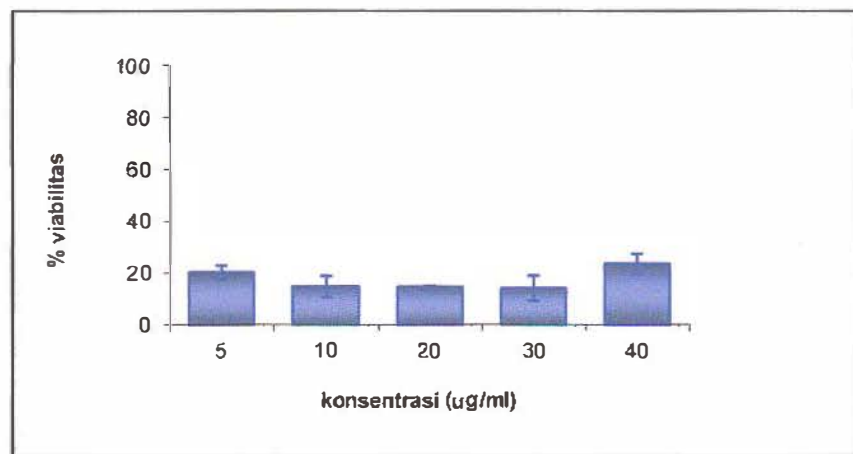
Tabel 3. Nilai viabilitas sel masing-masing perlakuan dengan ekstrak kloroform

Purata viabilitas sel T47D (%)	Konsentrasi (ug/ml)					IC ₅₀ (ug/ml)
	10	20	40	80	160	
Tali Putri	85,2198	72,5943	67,1285	52,0400	35,1039	81,5782
Biji Alpukat	104,7281	68,5579	20,9613	1,5760	1,1820	30,6123
Sarang semut	82,8211	88,8100	80,2206	63,3569	40,7407	152,7953
Daun sirsat	5,4540	7,4920	9,4039	4,2868	9,6164	2,2845
Buah Takokak	70,0272	78,6103	67,8473	43,9372	19,7547	31,0156
Bidara upas	89,9863	76,8392	24,3187	0,4767	2,3161	42,4547
Duri Tujuh	106,9158	108,9095	101,5576	94,3302	82,8037	8835,2854

Dari Tabel 3 dapat diketahui bahwa aktivitas sitotoksik ekstrak kloroform dari ke-7 jenis tanaman obat bervariasi. Nilai IC₅₀ terendah diperoleh pada ekstrak daun sirsat dan tertinggi pada herba duri tujuh. Hasil uji sitotoksik ekstrak kloroform dan ekstrak metanol tidak menunjukkan perbedaan nilai IC₅₀ secara nyata. Yang memberikan hasil berbeda hanya pada tanaman sarang semut dan duri tujuh, dimana nilai IC₅₀ ekstrak metanol sarang semut lebih tinggi dibandingkan dengan ekstrak kloroform, sedang duri tujuh nilai IC₅₀ ekstrak metanol lebih rendah dari ekstrak kloroform. Dengan demikian maka dapat

disebutkan bahwa dari ke-5 spesies tanaman obat yang diuji (tali putri, alpukat, sirsat, takokak dan bidara upas), memiliki kandungan senyawa aktif yang bersifat polar dan non-polar yang keduanya mempunyai aktivitas sitotoksis. Namun secara umum ekstrak kloroform memberikan efek sitotoksis lebih baik dibandingkan dengan ekstrak metanol. Untuk memperoleh gambaran efek penghambatan viabilitas sel T47D dari ekstrak kloroform daun sirsat, takokak, biji alpukat, dan bidara upas dapat dilihat pada gambar 8-11 berikut.

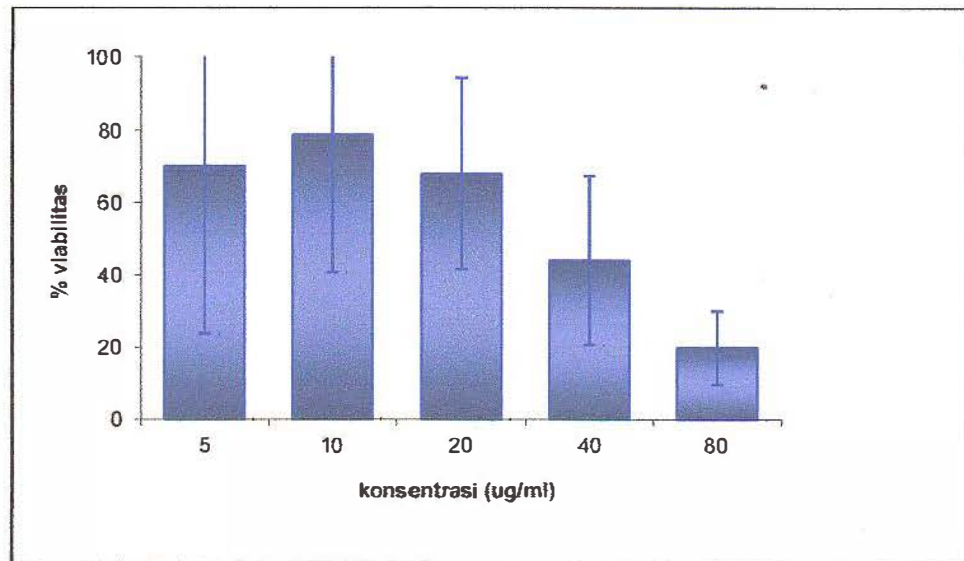
Gambar 8. Hasil uji sitotoksis ekstrak kloroform daun sirsat pada sel T47D



Gambar 9. Viabilitas sel T47D dengan perlakuan ekstrak kloroform daun sirsat pada konsentrasi 80 mg/ml dengan inkubasi selama 24 jam.

Dari Gambar 9 dan 10, dapat diketahui bahwa ekstrak kloroform daun sirsat dengan nilai IC50 yang rendah (2,2854 µg/ml) terlihat dari kematian sel line sudah dimulai pada konsentrasi ekstrak 20 mg/ml dan kematian tertinggi pada konsentrasi 80 mg/ml.

Gambar 10. Hasil uji sitotoksis ekstrak kloroform buah takokak pada sel T47D:



Gambar 11. Viabilitas sel T47D dengan perlakuan ekstrak kloroform buah takokak pada konsentrasi 80 mg/ml dengan inkubasi selama 24 jam.

Dari hasil uji sitotoksisitas ekstrak kloroform buah takokak menunjukkan bahwa peningkatan dosis pemberian ekstrak mampu mengurangi viabilitas sel T47D. Hal ini dimungkinkan bahwa pada penelitian sebelumnya untuk tanaman dalam famili Solanaceae lain yaitu *Solanum nigrum* menunjukkan efek penghambatan pertumbuhan sel T47D (Anindyajati, *et al.*, 2010). Senyawa yang diduga bertanggung jawab dalam mekanisme apoptosis dari *Solanum* adalah solanine dan solamargine, dua jenis senyawa steroidal glicosida yang ditemukan pada spesies *Solanum nigrum* (Liu *et al.*, 2004).

D. Hasil Uji Sitotoksis Hasil Pengembangan Formula Jamu/Herbal Anti-kanker

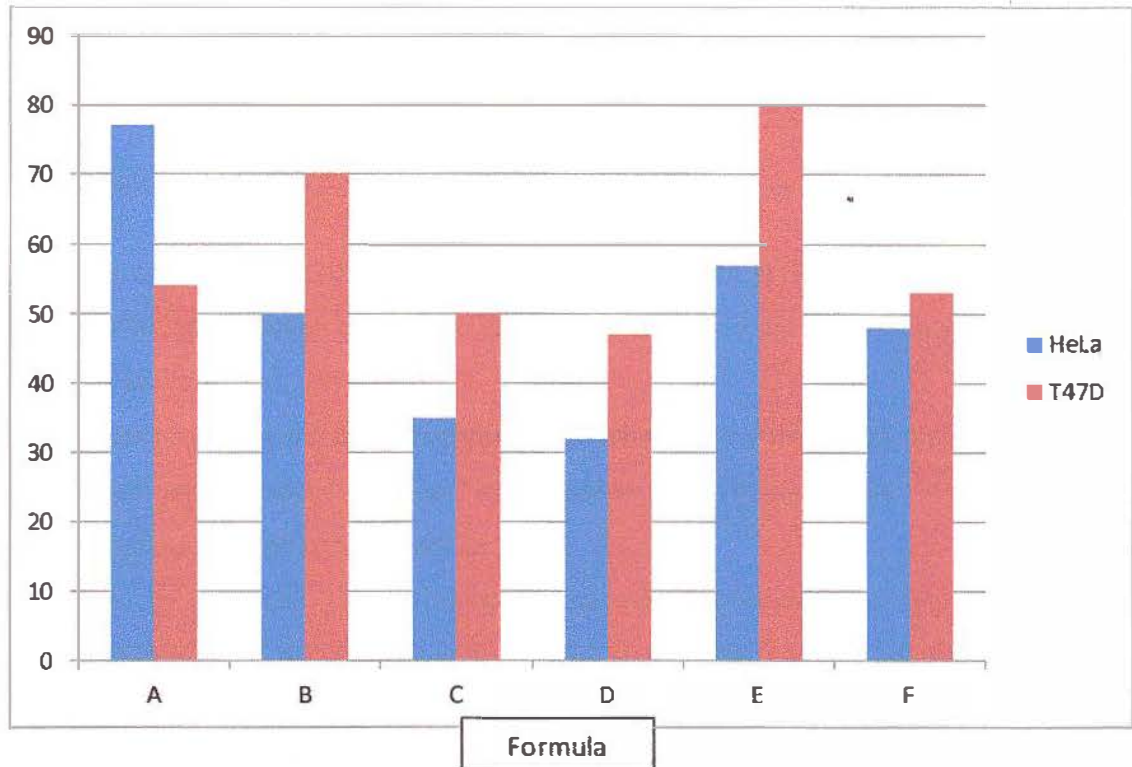
Tabel 4. Nilai viabilitas sel masing-masing formula terhadap sel HeLa

Purata viabilitas sel T47D (%)	Konsentrasi (ug/ml)					IC ₅₀ (ug/ml)
	10	20	40	80	160	
Formula I	104,2181	96,6049	65,0205	49,7942	28,3950	77,1378
Formula II	86,8312	83,1275	70,0617	51,3374	6,0699	50,0851
Formula III	86,1111	78,7037	57,7160	12,1399	3,3950	35,9882
Formula IV	82,2016	78,6008	53,2921	4,5267	4,3209	32,7452
Formula V	94,7530	96,7078	81,7901	42,4897	0,7201	57,7756
Formula VI	89,1975	107,9218	79,1152	14,1975	2,4691	48,3659

Tabel 5. Nilai viabilitas sel masing-masing formula terhadap sel T47D

Purata viabilitas sel T47D (%)	Konsentrasi (ug/ml)					IC ₅₀ (ug/ml)
	10	20	40	80	160	
Formula I	97,6753	90,6140	60,4824	49,3421	3,7719	54,7540
Formula II	104,7368	95,3957	83,9053	64,3421	0,2192	70,3541
Formula III	105,1315	95,0877	81,9298	12,2807	2,8070	50,2340
Formula IV	101,0526	94,4298	82,1929	3,8596	3,5526	47,4333
Formula V	103,5964	101,5789	87,3684	72,0614	2,2368	80,3405
Formula VI	95,2631	96,9736	92,1929	22,1929	0,3070	53,8903

Dari Tabel 4 dan 5 terlihat bahwa hasil uji sitotoksis formula herbal memberikan nilai IC₅₀ yang rendah (<100 ug/ml) baik pada sel line HeLa maupun T47D. Sebagai gambaran respon viabilitas sel HeLa dan T47D atas perlakuan formula herbal I sampai VI dapat dilihat pada Gambar 12.



Gambar 12. Nilai viabilitas sel line HeLa dan T47D atas perlakuan formula herbal anti-kanker

Nilai IC₅₀ terendah diperoleh dari perlakuan formula IV (D) yaitu bidara upas:daun sirsattakokak dengan perbandingan 1:2:1 baik diuji pada sel HeLa maupun sel T47D. Meskipun sebenarnya dari nilai IC₅₀ kesemua formula memberikan pengaruh terhadap pertumbuhan sel line kanker secara bermakna (nilai IC₅₀ < 100 ug/ml).

IV. KESIMPULAN DAN SARAN

Dari penelitian yang telah dilakukan maka dapat disimpulkan sebagai berikut:

1. Tanaman obat yang secara empiris digunakan untuk pengobatan tumor dan kanker semua mengandung komponen kimia yang memiliki aktivitas sebagai anti-oksidan dan anti kanker.
2. Tanaman obat yang secara empiris digunakan oleh masyarakat untuk pengobatan tumor atau kanker ternyata tidak semuanya terbukti secara *in vitro* mampu menghambat pertumbuhan sel kanker.
3. Hasil uji sitotoksik ekstrak metanol tanaman obat terhadap sel line kanker T47D dengan nilai IC50 terendah adalah untuk daun sirsat (2,284 ug/ml) dan tertinggi adalah ekstrak duri tujuh (8625,726 ug/ml).
4. Formula yang dikembangkan memiliki aktivitas penghambatan viabilitas sel line kanker dengan nilai IC50 kurang dari 100 ug/ml, dan nilai IC50 terendah 32,7452 ug/ml diperoleh dari formula IV (D) yaitu campuran antara bidara upas, daun sirsat dan takokak dengan perbandingan 1:1:1.

Saran:

Dari penelitian ini disarankan untuk melakukan penelitian lanjut tentang mekanisme aksi dari formula jamu anti-kanker baik secara *in vitro* maupun *in vivo*.

LEMBAR PENGESAHAN

Penelitian dengan judul: **Eksplorasi, Identifikasi dan Uji Sitotoksis Tanaman Obat serta Pengembangan Formulanya Sebagai Antikanker Berbasis Etnobotani Medis**, telah dinyatakan selesai dan telah dibahas oleh Panitia Pembina Ilmiah Balai Besar Litbang Tanaman Obat dan Obat Tradisional.

Tawangmangu, Januari 2012

Menyetujui,

Penyusun,

Ketua Panitia Pembina Ilmiah



Ir. Yuli Widiyastuti, MP

NIP. 196707161993032002



Ir. Yuli Widiyastuti, MP

NIP, 196707161993032002

Mengetahui,

Kepala Balai Besar Litbang Tanaman Obat dan Obat Tradisional



Indah Yuning Prapti, SKM., M.Kes.

NIP. 195508101977122001

DAFTAR PUSTAKA

- Ahmad N.H., R.A. Rahim, and I. Mat. 2010. Catharanthus roseus aqueous extract is cytotoxic to Jurkat leukaemic T-cells but induces the proliferation of normal peripheral blood mononuclear cells. *Tropical Life Science Research*. 21(2): 105-111
- Anindyajati, Sarmoko, Dyaningtyas D.P. Putri, Adam Hermawan and Edy Meiyanto, 2010. Combination of Solanum nigrum L. Herb Ethanolic Extract and Doxorubicin Performs Synergism on T47D Breast Cancer Cells. *Indonesia Journal of Cancer Chemoprevention*, 1(2): 78-84.
- Anonim, 2006a, *Upaya Mencegah 8 Juta Kematian Akibat Kanker Hingga Tahun 2015*, <http://www.depkes.go.id>, Departemen Kesehatan, RI, Jakarta, 15 Februari 2006
- Anonim, 2009. Penderita Kanker di Indonesia Meningkat. <http://www.tempointeraktif.com/hg/kesehatan/2009/>. Diakses 6 November 2010
- Anonim. 2008. Kanker serviks penyebab kematian Nomor satu Di Indonesia. Kompas, 19 desember 2008; 05.44 WIB. <http://kesehatan.kompas.com/> diakses tanggal 10 Mei 2010
- Anonim. 2010. Apoptosis. <http://pkukmweb.ukm.my/Danial/Apoptosis2.html>. diakses 10 April 2010.
- Admin. CCRC UGM, 2010. CCRC farmasi UGM. <http://ccrc.farmasi.ugm.ac.id>
- Anonim, 2006a, Apoptosis Extrinsic and Intrinsic Pathways, http://www.upstate.com/features/apop_pathway.asp
- Anonim, 2006b, Hela Cell, www.answers.com/topic/hela

- Anonim, 2006c, Hela is also The German Name for Hel, Poland and The Cruiser SMS Hela, Wikipedia the Free Encyclopedia, Wikimedia Foundation, <http://en.wikipedia.org/wiki/HeLa>, diakses tanggal 20 Januari 2006.
- Baratawidjaja K.G., 2004, *Imunologi Dasar*, edisi ke-6, Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, Jakarta
- Anonim, 2006c, *The Importance Of Biodiversity*
- Benjamini, E., Coico, R., Sunshine, G., 2000, *Immunology: A short Course*, 3th edition, A John Willey & Sons, New York
- Chang, L.C. and A.D. Kinghorn. 2001. *Flavanoid as Cancer Chemopreventive agents* in Trigali C. Bioactive Compound from Natural Sources. Isolation, Characterization and Biological Properties. Taylor & Friends. New York
- Channel, R.J.P., 1998, *Natural Product Isolation*, Humana Press Inc., New Jersey
- DeFillippis, R.A., Goodwin, E.C., Wu, L., DiMaio, D., 2003, Endogenous Human Papillomavirus E6 and E7 Proteins Differentially Regulate Proliferation, Senescence, and Apoptosis in Hela Cervical Carcinoma Cells, *Journal of Virology*, Vol.77, no.2, 1551-1563.
- Fauzi, et al. 2006. *Laporan Penelitian Inventarisasi Tanaman Obat dari Taman Nasional kerinci Seblat*. Balai Besar Litbang Tanaman Obat dan Obat Tradisional.
- Freshney, R.I., 1986, *Animal Cell Culture, A Practical Approach*, 1st Ed, IRL Press, Washington D.C.
- Goodwin, E.C., DiMaio, D., 2000, Repression of human papillomavirus oncogenes in Hela cervical carcinoma cells causes the orderly reactivation of dormant tumor suppressor pathways, *Biochemistry*, Vol.97, no.23.
- Hartwell, L.H. and Kastan, M.B. 1994. Cell Cycle Control and Cancer. *Science* 266: 1821-1828.

- Jemal, A., Siegel, R., Ward, E., Murray, T., Jiaquan Xu and Michael J.T. 2007. Cancer statistic 2007, *CA Cancer J Clin.*, 57:43-66.
- Johan Kurniada, Susana Hilda, H., dan Mardiah Suci Hardianti. (Editor). 2011. The Hallmarks of Cancer: Diskusi Komprehensif. Oncology for Students. (Publikasi Internal FK. UGM Yogyakarta).
- Liu, L.F., Liang C.H., Shiu L.Y., Lin W.L., Lin C.C. and Kuo K.W., 2004. Action of Solarmargine on Human Lung Cancer Cells-Enhancement of the Susceptibility of Cancer cell to TNF's. *FEBS Lett.*, 577 (1-2): 67-74
- Piersen, C.E.,2003.Phytoestrogens in Botanical Dietary Supplement Implication for Cancer. *Integrative Cancer Therapies*. Vol. 2. No. 2. p:120-138.
- Shoeb Muhammad, 2006. Anticancer agents from medicinal plants. *J. Pharmacol.* 1:35-41.
- Suffness M., and J.M. Pezzuto. 1990. Assays related to cancer drug discovery. In: Hostettmann, K. (Ed), *Method in plant biochemistry: Assay for Bioactivity*. Academic Press, London: 71-133.
- Sunarni, T., Pramono, S. Dan Asmah, R.2007. Flavonoid Antioksidan penangkap radikal bebas dari daun kepel (*Stelochocarpus burahol* (Bl.) Hook f. &Th.). *Majalah Farmasi Indonesia* 18(3), hal :111-116.
- Tim Penebar Swadaya.1990. *Mengenal Tanaman Langka Indonesia*. Penebar Swadaya. Jakarta.
- Ueda J.Y., Y Tezuka, A.H. Banskota, Q. Le Tran and Q.K. Tran. 2002. Antiproliferative activity of Vietnamese medicinal plants. *Biol. Pharm. Bull.* 25: 753-760.
- Wahyuni, D.S.C. dan Etikawati, N. 2010. Isolasi dan Penetapan Kadar Senyawa Bioaktif Daun Keladi Tikus (*Typhonium flagelliforme*) Sebagai Kandidat Anti Kanker Dan Imunostimulator 2010. Laporan Penelitian Hibah Bersaing.

Wardana, H. D. 2002. Pemanfaatan Plasma Nutfah dalam Industri Jamu dan Kosmetika Alami. Buletin Plasma Nutfah. Badan Litbang Pertanian. Dept Pert. 8(2): 84-89.

Wiat, C. 2007. Goniiothalamus Species : A Source of Drugs for the Treatment of Cancers and Bacterial Infection.<http://eCAM.oxfordjournals.org>.by April 9, 2010.01.00 a.m.

www.krpurwodadi.lipi.co.id. Purwodadi Botanical garden. Diakses 6 November 2010.