
Artikel

HASIL PENELITIAN

Efek Antikanker Isolat Flavonoid dari Herba Benalu Mangga (*Dendrophthoe petandra*)

Sukardiman, IGP Santa, Rahmadany
Fakultas Farmasi Universitas Airlangga, Surabaya

ABSTRAK

Telah dilakukan pengujian aktivitas antikanker dari isolat flavonoid dari herba benalu mangga (*Dendrophthoe petandra*). Untuk bewan coba digunakan mencit betina yang menderita kanker pada daerah interskapuler (tengkuk) dari hasil induksi dengan benzopirena.

Isolasi flavonoid dilakukan dengan maserasi secara bertahap menggunakan pelarut : heksan, kloroform dan etanol. Dari eksirak etanol dilakukan fraksinasi dengan kolom cepat dan digunakan pelarut diklorometan - etanol secara bertingkat.

Sediaan isolat flavonoid diberikan secara intraneoplasma selama 7 kali penyuntikan dengan interval 2 hari sekali. Untuk evaluasi antikanker digunakan parameter volume kanker dan irisan anatomi histologi jaringan kanker.

Hasil penelitian menunjukkan pada dosis 2,44 mg/0,2 ml, isolat flavonoid herba benalu mangga (*Dendrophthoe petandra*) mampu menghambat pertumbuhan kanker pada mencit ($p < 0,05$).

PENDAHULUAN

Salah satu metode yang digunakan dalam pengembangan dan penemuan obat antikanker dari babas bioaktif tanaman menggunakan hewan coba mencit yang dibuat kanker dengan induksi benzopirena, N-metil-N-nitrosourea, 3-metilkolantrena; evaluasi parameter antikanker dengan penghambatan pertumbuhan kanker dan data anatomi-histologi^(1,2,3).

Pada penelitian ini dipilih isolat flavonoid dari herba benalu mangga (*Dendrophthoe petandra*), berdasarkan pada penggunaan secara tradisional sebagai obat kanker, serta adanya laporan penelitian yang menyatakan bahwa Isolat flavonoid dari benalu mangga (*Dendrophthoe petandra*) dapat menghambat pertumbuhan *Artemia sauna* Leach⁽¹⁾. *Anemia salina* Leach adalah hewan coba yang digunakan untuk praksi aktivitas antikanker di National Cancer Institute, Amerika Serikat⁽²⁾.

TUJUAN PENELITIAN

Menguji aktivitas antikanker isolat flavonoid benalu

mangga (*Dendrophthoe petandra*) pada mencit yang menderita kanker karena induksi dengan benzopirena.

BAHAN DAN METODE

Isolasi flavonoid

Isolasi flavonoid dilakukan dengan maserasi secara bertahap menggunakan pelarut : heksan, kloroform dan etanol. Dari ekstrak etanol dilakukan fraksinasi dengan kolom cepat dan digunakan pelarut diklorometan - etanol dengan perbandingan secara bertingkat.

Hewan percobaan

Hewan yang digunakan dalam penelitian ini adalah mencit putih betina galur BALB-C, berusia sekitar dua bulan. Kanker dibuat dengan menyuntikkan larutan benzopirena dalam oleum olivarum secara subkutan pada daerah interskapuler (tengkuk) dengan dosis 0,3 mg/0,1 ml selama 10 kali dengan interval 2 hari sekali. Benjolan kanker pada mencit akan mulai tumbuh

setelah dua bulan penyuntikan benzopirena.

Hewan coba dibagi dalam 4 kelompok yang masing-masing terdiri dari lima ekor mencit :

1. Kelompok kontrol (tanpa pemberian isolat flavonoid)
2. Kelompok yang diberi flavonoid dengan dosis 0,56 mg/0,2 ml
3. Kelompok yang diberi flavonoid dengan dosis 1,12 mg/0,2 ml
4. Kelompok yang diberi flavonoid dengan dosis 2,24 mg/0,2 ml

Pemberian Isolat dan pengukuran aktivitas antikanker

Hewan coba yang menderita kanker diberi isolat flavonoid secara intraneoplasma dengan dosis di atas sebanyak 7 kali penyuntikan dengan interval waktu 2 hari sekali.

Pengukuran volume kanker dilakukan dengan cara membuat cetakan dari malam (*wax*) yang ditempelkan pada benjolan kanker; kemudian malam diangkat dan diisi dengan air. Banyaknya air yang diisikan pada bentukan malam tersebut sebanding dengan volume kanker.

Irisan anatomi histologi jaringan kanker dilakukan pada kelompok kontrol dan kelompok yang pada perhitungan statistik diketahui memiliki efek antikanker secara bermakna.

Analisis data

Untuk mengetahui adanya pengaruh aktivitas isolat flavonoid dari herba benalu mangga (*Dendrophoe petandra*) terhadap kanker mencit dilakukan analisis statistik dengan metode T-student.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Isolasi flavonoid dilakukan secara maserasi bertahap dan dilanjutkan dengan kromatografi kolom cepat, karena senyawa flavonoid lebih mudah tertarik pada pelat etanol sedangkan senyawa selain flavonoid yang bersifat nonpolar dan semipolar akan tertarik pada pelarut heksan dan kloroform; Hal ini akan mempermudah pemurnian terhadap flavonoid.

Pemilihan penggunaan benzopirena sebagai *inducer* kanker pada mencit, didasarkan pada pengalaman peneliti yang cukup baik; tidak terjadi infeksi atau memborok, waktu penyuntikan sampai timbulnya kanker relatif cepat (kurang lebih dua bulan).

Tabel 1 memperlihatkan hasil pengukuran volume kanker rata-rata pada kelompok kontrol mencit yang tidak diberi isolat flavonoid pada hari pengamatan ke 0, 2, 4, 6, 8, 10, 12 dan 14. Dan volume kanker yang diperoleh kemudian ditentukan persen pertumbuhan kumulatif yang nantinya akan digunakan dalam perhitungan statistik T-student test.

Hasil analisis T-student test terhadap kelompok II dengan perlakuan dosis 0,56 mg/0,2 ml dapat dilihat pada **Tabel 2**.

Perlakuan dengan dosis I sebesar 0,56 mg/0,2 ml pada pengamatan hari ke 0 sampai ke 14 tidak menyebabkan perbedaan bermakna antara kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan, pada derajat kepercayaan $p < 0,05$.

Hasil perlakuan dengan dosis II (1,12 mg/0,2 ml) terhadap pertumbuhan kanker mencit dapat dilihat pada **Tabel 3**. Dari hasil tersebut terlihat bahwa dengan perlakuan dosis II masih belum menunjukkan adanya hambatan terhadap pertumbuhan

Tabel 1. Hasil pengukuran volume kanker mencit pada kelompok kontrol

Hari pengamatan ke	Nilai rata-rata volume kanker (mm ³)	Jumlah hewan	Persen pertumbuhan (kumulatif)
0	591,25	5	100
2	630	5	106,7
4	675	5	114,3
6	718,75	5	121,8
8	761,25	5	129,0
10	802,5	5	136,0
12	845	5	143,3
14	885	5	150,1

Tabel 2. Hasil analisis T-student pada kelompok uji I (dosis 0,56 mg/0,2 ml)

Hari ke	Volume rata-rata kanker (mm ³)	Persen pertumbuhan kumulatif (Kel.I)	Persen pertumbuhan kumulatif (Kel.kontrol)	Signifikasi
0	616,25	100	100	ts
2	657,5	106,8	106,7	ts
4	701,25	114	114,3	ts
6	746,25	121,4	121,8	ts
8	786,25	128,0	129	ts
10	830	135	136	ts
12	883,75	142	143	ts
14	917,5	149,4	150	ts

Keterangan : ts = tidak signifikan

Tabel 3. Hasil analisis T-student pada kelompok uji II (dosis 1,12 mg/0,2 ml)

Hari ke	Volume rata-rata kanker (mm ³)	Persen pertumbuhan kumulatif (Kel.II)	Persen pertumbuhan kumulatif (Kel.kontrol)	Signifikasi
0	631,25	100	100	ts
2	671,5	106,6	106,7	ts
4	711,25	113	114,3	ts
6	753,75	119,8	121,8	ts
8	795	126,0	129	ts
10	836,25	133,3	136	ts
12	881,25	140	143	ts
14	927,5	148,1	150	ts

Keterangan : ts = tidak signifikan

kanker dari mencit.

Pemberian dosis III 2,24 mg/0,2 ml mulai menunjukkan perbedaan antara kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan, t hitung kelompok ini pada hari ke-4 sampai dengan hari ke-14 lebih besar dari t tabel; dengan demikian isolat flavonoid pada dosis 2,24 mg/0,2 ml yang diberikan tiap interval waktu 2 hari kali selama tujuh kali dapat menghambat pertumbuhan kanker mencit yang diinduksi dengan benzopirena.

Dengan melihat hasil demikian, kemungkinan besar dosis III sebesar 2,24 mg/0,2 ml baru merupakan dosis awal terapi (pengobatan) yang seharusnya digunakan dalam penelitian.

Senyawa flavonoid dari benalu secara umum adalah senyawa kuersetin (Hegnauer, R., 1966); yang ternyata bersifat inhibitor terhadap enzim DNA topoisomerase sel kanker

(Andreas, C., et. al. 1995). Enzim tersebut adalah enzim yang berperan dalam proses replikasi, transkripsi dan rekombinasi DNA dan juga proses proliferasi dan diferensiasi sel kanker; enzim ini merupakan target baban bioaktif tanaman yang memiliki aktivitas antikanker, karena dengan dihambatnya enzim DNA topoisomerase maka proses dalam sel akan terhenti dan akhirnya akan terjadi kematian sel tersebut^(1,3).

Pada penelitian ini belum ditentukan jenis senyawa flavonoid dari hasil isolasinya; hanya digunakan reaksi penetapan kualitatif dengan reaksi warna dan Kromatografi Lapis Tipis (KLT) yang menunjukkan bahwa Slat tersebut adalah senyawa flavonoid. Tidak adanya kuersetin bukan berarti tidak ada aktivitas antikanker, karena ada laporan lain yang menyatakan bahwa senyawa flavonoid jenis lain seperti metiltrisetin mampu menghambat aktivitas enzim DNA topoisomerase sel kanker⁽⁴⁾.
Tabel 4. Hasil analisis T-student pada kelompok uji III dosis 2,24 mg/0,2 ml

Tabel 4. Hasil analisis T-student pada kelompok uji III (dosis 2,24 mg/0,2 ml)

Hari ke	Volume rata-rata kanker (mm ³)	Persen pertumbuhan kumulatif (Kel.III)	Persen pertumbuhan kumulatif (Kel.kontrol)	Signifikan
0	655	100	100	ts
2	691.25	105,6	106,7	ts
4	717.5	109.7	114,3	p < 0,05
6	740	113	121,8	p < 0,05
8	765	116,9	129	p < 0,05
10	786,25	120.4	136	p < 0,05
12	850	130.2	143	p < 0,05
14	921.25	141,2	150	p < 0,05

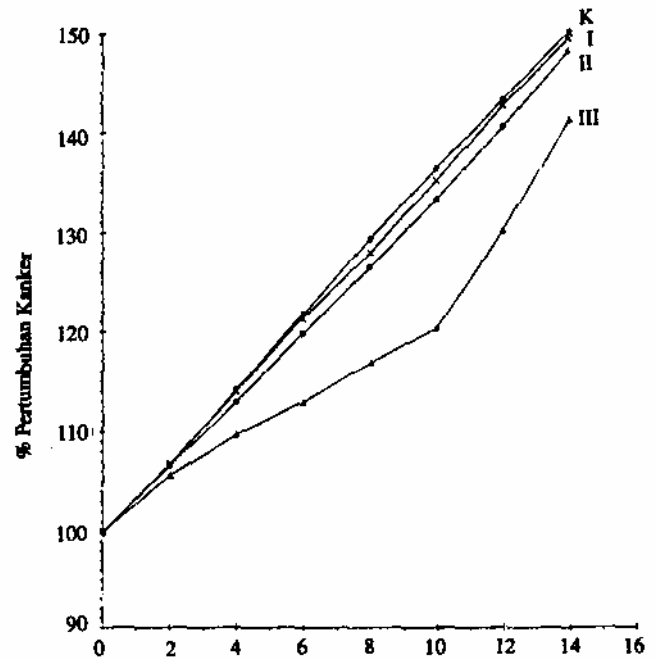
Keterangan : ts = tidak signifikan
p < 0,05 = signifikan (bermakna)

Untuk melihat efek antikanker dari isolat flavonoid dapat digunakan grafik pertumbuhan persentase pertumbuhan kumulatif sel kanker dari kelompok kontrol dan kelompok perlakuan dosis I, II, III terhadap hari pengamatan (**Gambar 1**).

Terlihat bahwa dosis I dan II pada kelompok perlakuan dibanding dengan kelompok kontrol sudah mulai menyebabkan perbedaan; volume kanker rata-rata kedua dosis tersebut di bawah volume kanker rata-rata kelompok kontrol, namun ternyata secara statistik dengan uji T-student tidak berbeda bermakna. Sedang untuk perlakuan dosis III (2,24 mg/0,2 ml) terlihat sangat nyata adanya perbedaan pertumbuhan kanker kumulatif dari kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan dosis III yang mulai hari ke 4 sampai hari ke 14 pengamatan pertumbuhan kankernya semua di bawah kurva kelompok kontrol. Hal ini juga ditunjang dengan analisis statistik yang menunjukkan perbedaan bermakna pada p < 0,05.

Analisis histologi jaringan kanker, khususnya pada kanker dad kelompok perlakuan dosis III (2,24 mg/0,2 ml) dapat dilihat pada **Gambar 2**; terlihat adanya sel nekrosis dan fusi adanya sel inti yang mulai mengecil dan memadat.

Dengan demikian diperoleh korelasi positif antara uji aktivitas antikanker dengan metode pengukuran volume kanker dengan metode anatomi dan histologi jaringan kanker.



Keterangan: K = Kelompok kontrol
I = Kelompok I (dosis 0,56 mg/0,2 ml)
II = Kelompok II (dosis 1,12 mg/0,2 ml)
III = Kelompok III (dosis 2,24 mg/0,2 ml)

Gambar 1. Grafik persen pertumbuhan kanker terhadap waktu (hari).



Keterangan : 1. Sel nekrosis
2. inti sel memadat dan mengecil

Gambar 2. Irisan anatomi jaringan kanker yang diberi isolat Flavonoid pada dosis III (2,24 mg/0,2 ml)

KESIMPULAN DAN SARAN

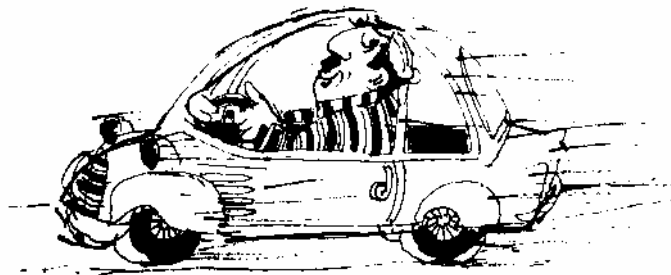
Hasil penelitian menunjukkan bahwa pada dosis 2,24 mg/0,2 ml, isolat flavonoid dari herba benalu mangga (*Dendrothoe petandra*) mampu menghambat pertumbuhan kanker pada mencit yang diinduksi (Ragan benzopirena (p < 0,05)).

Perlu dilakukan identifikasi dan karakterisasi dari isolat flavonoid dengan spektra : UV, IR, MS dan NMR.

KEPUSTAKAAN

1. Nararto. Uji praskrining isolat flavonoid dari herba benalu mangga (*Dendrothoe petandra*). Skripsi Farmasi Unair, 1996.
2. Meyer BN. Brine Shrimp : A Convenient General Bioassay for Active Plant Constituents, *J. Medicinal Plant Res* 1982; 45.
3. Andreas C et al. Flavonoid as DNA Topoisomerase Antagonist and Poison: Structure-Activity Relationship, *J. Natural Product* 1995; 58: 2.
4. Abdellatif Zahir et al. DNA Topoisomerase I Inhibitors : Cytotoxic flavones from *Lethedon tannensis*, *J. Natural Product*. 1996; 59.

Musim kemarau



Musim hujan

