

## HASIL PENELITIAN

# Uji Bioaktivitas Sari Etanol Beberapa Tanaman Terhadap Sel Lekemia L1210

Ermin Katrin W.

*Pusat Aplikasi Isotop dan Radiasi, Badan Tenaga Atom Nasional, Jakarta.*

### ABSTRAK

Uji bioaktivitas sari etanol dan tusuk konde (*Heliotropium indicum L.*), talatak manuk (*Dysoxylum excelsum B 1*), belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi L.*), dadap sepi (*Erythrina hypophorus Boerl.*), pacar cina (*Aglaia odorata Lour*), benalu masisien, dan kenanga hitam telah dilakukan terhadap sel leukemia L1210. Hasil pengujian menunjukkan bahwa kecuali kenanga hitam, tanaman tersebut mempunyai aktivitas sebagai anti leukemia dengan  $IC_{50} \leq 31$  ppm. Pemurnian lebih lanjut terhadap sari daun tusuk konde dengan menggunakan *sep-pak cartridge* dilanjutkan dengan KCKT diperoleh tujuh fraksi yang belum murni, yaitu fraksi A, B, C, D, E, F, dan G. Ke tujuh fraksi tersebut semuanya aktif menghambat pertumbuhan sel leukemia L1210 dengan  $IC \leq 6,8$  ppm. Pemurnian lebih lanjut terhadap ke tujuh fraksi tersebut sedang dilakukan.

### PENDAHULUAN

Lekemia atau lebih dikenal dengan nama kanker darah adalah suatu penyakit yang tidak banyak dijumpai, tetapi umumnya berakhir dengan kematian. Meskipun kematian akibat leukemia relatif kecil dibandingkan dengan kematian akibat penyakit lainnya tetapi berdasarkan laporan WHO, kematian akibat leukemia meningkat di berbagai negara, selama 30 tahun terakhir ini angka kematian di Amerika Serikat meningkat 2 kali lipat sejak tahun 1971<sup>(2)</sup>. Penyakit leukemia disebabkan oleh 2 faktor, yaitu faktor intrinsik (*host*): keturunan, kelainan kromosom, defisiensi imun, disfungsi sumsum tulang; dan faktor ekstrinsik (lingkungan) : paparan radiasi, bahan kimia obat-obatan, dan infeksi<sup>(3)</sup>.

Dalam dekade terakhir ini, usaha untuk menanggulangi penyakit tersebut melalui penggalan obat tradisional telah banyak dilakukan, sehingga memberikan harapan pada penderita untuk bertahan hidup. Lebih dari 275.000 jenis ekstrak bahan alam telah diuji oleh *National Cancer Institute* (NCI) Amerika Serikat dalam program skrining zat anti kanker yang dimulai sejak tahun 1955<sup>(4)</sup>, dan hingga tahun 1960-an telah diperoleh sekitar 1.770

sari etanol berbagai jenis tanaman yang dapat digunakan untuk mengobati leukemia<sup>(2)</sup>.

Program skrining tersebut sangat giat dilakukan setelah ditemukan Vinkristine (obat leukemia) dan Vinblastine (obat kanker payudara dan penyakit Hodgkin) dan daun tapak dara (*Cataranthus roseus*)<sup>(5)</sup>. Fujimoto et al.<sup>(6)</sup> juga telah berhasil mengisolasi 3 jenis zat, yaitu Blumealactone A, B, dan C dan tanaman sembung (*Blumea balsamifera*) yang dapat menghambat pertumbuhan sel *Yoshida sarcoma*.

Indonesia merupakan negara yang kaya berbagai jenis tanaman dan di antaranya banyak digunakan sebagai obat secara tradisional. Biasanya obat dan tanaman tersebut digunakan dalam bentuk jamu. Pada umumnya khasiat tanaman obat tersebut belum dibuktikan kebenarannya secara ilmiah. Dalam program pembinaan penggunaan tanaman obat tradisional, Departemen Kesehatan menganjurkan agar dilakukan penelitian ilmiah tentang khasiat tanaman obat tradisional<sup>(7)</sup>.

Benalu teh dan berbagai jenis benalu lainnya telah dikenal masyarakat sebagai obat kanker; sementara obat-obat kimia untuk mengobati kanker (*secara chemotherapy*) dewasa

ini umumnya berasal dari luar negeri dan harganya sangat mahal. sehingga sulit terjangkau oleh masyarakat umum yang membutuhkan.

Berdasarkan kenyataan tersebut, maka dicoba melakukan uji bioaktivitas sari etanol dan beberapa jenis tanaman terhadap sel leukemia L1210. Beberapa jenis tanaman yang diuji adalah tusuk konde (*Heliotropium indicum L.*), talatak manuk (*Dysoxylum excelsum Bl.*), belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi L.*), dadap srep (*Erythrina hypophorus Boerl.*), pacar cina (*Aglaia odorata Lour*), benalu mesisien, dan kenanga hitam. Tanaman-tanaman ini secara tradisional digunakan oleh masyarakat untuk mengobati berbagai penyakit. Misalnya tusuk konde untuk mengobati infeksi paru, sariawan, desentri, peradangan buah zakar, bisul, peluruh haid, dan lain-lain. Dutta et al.(8) melaporkan bahwa tusuk konde mengandung alkaloid pirolizidmn yaitu indisin-N-oksida yang dapat memberikan efek penyembuhan terhadap pasien leukemia akut.,

Diharapkan, dan pengujian tersebut dapat diperoleh sari yang aktif menghambat pertumbuhan sel leukemia L1210, sehingga dapat digunakan untuk mengobati penyakit leukemia. Lebih lanjut dapat diisolasi untuk mendapatkan senyawa murni untuk tujuan identifikasi struktur kimianya.

## BAHAN DAN METODE

### Ekstraksi Tanaman

Tanaman yang diuji pada penelitian ini adalah daun dan batang tusuk konde (*Heliotropium indicum L.*) serta daun pacar cina (*Aglaia odorata Lour*) dari daerah Bogor (Jabar); daun, kulit, batang, dan akar talatak manuk (*Dysoxylum excelsum Bl.*); akar belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi L.*), kulit batang dadap-srep (*Erythrina hypophorus Boerl.*); daun dan batang benalu mesisien; dan kulit batang kenanga hitam dari daerah Palangka Raya (Kalteng).

Contoh tanaman dikeringkan dengan mengangin-anginkan pada suhu kamar, selanjutnya dipotong-potong kecil dan *diblend* dengan Bamix sampai halus. Sebanyak 50 gram bubuk kering *diblend* dengan 300 ml etanol selama 2 menit, kemudian disaring dengan penyaring Buchner. Filtrat yang diperoleh dikumpulkan, sedangkan ampasnya *diblend* lagi dengan plarut yang sama sebanyak 3 kali. Filtrat yang dikumpulkan diuapkan dengan *rotary evaporator* dan diteruskan dengan aliran gas nitrogen sampai seluruh etanol menguap, diperoleh sari kering. Selanjutnya dibuat larutan baku dengan konsentrasi 2.500, 5.000, dan 10.000 ppm dalam pelarut metanol, kemudian dilakukan uji bioaktivitasnya terhadap, leukemia L1210.

### Uji Bioaktivitas Sari Etanol Terhadap Sel Leukemia L1210.

Aktivitas sari etanol akar, kulit batang, batang maupun daun diuji dengan menggunakan sel leukemia tikus (leukemia L1210) yang diperoleh dan *The institute of Physical and Chemical Research* (Riken), Jepang.

Tahap pengujian dilakukan sebagai berikut sel leukemia L1210 dibiakkan dalam media Eagle MEM sehingga populasinya mencapai  $20 \times 10^4$  sel/ml. Pengujian contoh dilakukan dengan menambahkan larutan baku masing-masing sebanyak 10 µl ke

dalam 1 ml suspensi sel sehingga konsentrasi zat uji adalah 25,50, dan 100 ppm. Sebagai pembanding digunakan 10 µl metanol yang telah ditambah 1 ml suspensi sel. Percobaan dilakukan duplo. Selanjutnya suspensi sel yang telah diisi sari/zat uji tersebut diinkubasi selama 2 hari pada suhu 37°C dalam inkubator CO<sub>2</sub>. Setelah itu, jumlah sel yang masih hidup dihitung di bawah mikroskop.

Persentase inhibisi/penghambatan sari etanol terhadap pertumbuhan sel leukemia L1210 dihitung sebagai berikut:

$$\% \text{ Inhibisi} = (1-A/B) \times 100$$

A = Jumlah sel dalam media yang mengandung zat uji

B = Jumlah sel dalam media yang tidak mengandung zat uji

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Dari hasil ekstraksi menggunakan pelarut etanol pada **Tabel 1**. Dari tabel 1 tersebut terlihat bahwa rendemen yang diperoleh dan ekstraksi tanaman menggunakan etanol 90% sangat bervariasi dan berkisar antara 3,8 - 22,6%. Selanjutnya dari etanol yang diperoleh diuji bioaktivitasnya terhadap sel leukemia L 1210. Hasil penentuan IC<sub>50</sub> dari sari etanol terhadap pertumbuhan sel leukemia L1210 disajikan pada **tabel 2**.

**Tabel 1. Rendemen sari etanol dan berbagai tanaman**

Jenis Tanaman	Bagian Tanaman	Rendemen (%)	Bentuk & warna ekstrak kasar
Tusuk konde ( <i>Heliotropium indicum L.</i> )	batang	6,0	sirup, hijau tua
	daun	6,2	sirup, hijau tua
Talatak manuk ( <i>Dysoxylum excelsum Bl.</i> )	akar	3,8	sirup, coklat tua
	batang	4,4	sirup, coklat tua
	kulit batang daun	4,6 18,7	sirup, coklat tua sirup, coklat tua
Belimbing wuluh ( <i>Averrhoa bilimbi L.</i> )	akar	18,0	sirup. merah tua
Dadap srep ( <i>Erythrina hypophorus Boerl.</i> )	kulit batang	8,2	sirup, coklat tua
Pacar cina ( <i>Aglaia odorata Lour</i> )	daun	8,6	sirup, hijau tua
Benalu mesisien	batang	22,3	sirup, coklat tua
	daun	22,6	sirup, coklat tua
Kenanga hitam	akar	11,2	sirup, coklat tua

\* Bobot sari etanol per bobot kering tanaman

Dari **Tabel 2** terlihat bahwa selain akar kenanga hitam, contoh tanaman yang diuji menunjukkan aktif menghambat pertumbuhan sel leukemia L1210 dengan  $IC_{50} \leq 31$  ppm. IC<sub>50</sub> (*inhibition Concentration*) adalah konsentrasi zat uji yang menyebabkan terhambatnya pertumbuhan sel sebesar 50%. Hasil pengujian ini secara tuntas masih memerlukan waktu yang cukup panjang.

Di dalam sari etanol yang aktif menghambat pertumbuhan sel leukemia L1210 ini diperkirakan ada satu atau lebih komponen yang benar-benar aktif berperan sebagai zat anti leukemia, sehingga pemisahan lebih lanjut mutlak diperlukan. Oleh karena itu dicoba dilakukan pemisahan terhadap sari daun tusuk konde menggunakan *sep-pak cartridge* (absorben florisisil C-18) dengan

**Tabel 2. Nilai IC<sub>50</sub> dari sari etanol terhadap pertumbuhan sel leukemia L1210**

Tanaman	Bagian Tanaman	IC <sub>50</sub> , (ppm)	Anti leukemia
Tusuk konde ( <i>Heliotropium indicum</i> L.)	batang daun	< 25 31	+
Talatak manuk ( <i>Dysoxylum excelcunt</i> Bl.)	akar	< 25	+
	batang	< 25	+
	kulit hatang	< 25	+
	daun	< 25	+
Belimbing wuluh ( <i>Averrhoa bilimbi</i> L.)	akar	< 25	+
Dadap srep ( <i>Erythrina hyphoporus</i> Boerl)	kulit batang	< 25	+
Pacar cina ( <i>Aglaia odorata</i> Lour)	dauu	< 25	+
Benalu masisien	hatang	< 25	+
	daun	< 25	+
Kenanga hitam	akar	> 100	+

Keterangan : + = aktif menghambat pertumbuhan sel leukemia L1210  
 - = tidak/kurang aktif menghambat pertumbuhan sel leukemia L1210

eluen campuran metanol : air = 1:2, 1:1, 2:1, 3:1 dan 1:0. Residu yang diperoleh diuji bioaktivitasnya terhadap sel leukemia. Hasil pengujian disajikan pada **Tabel 3**.

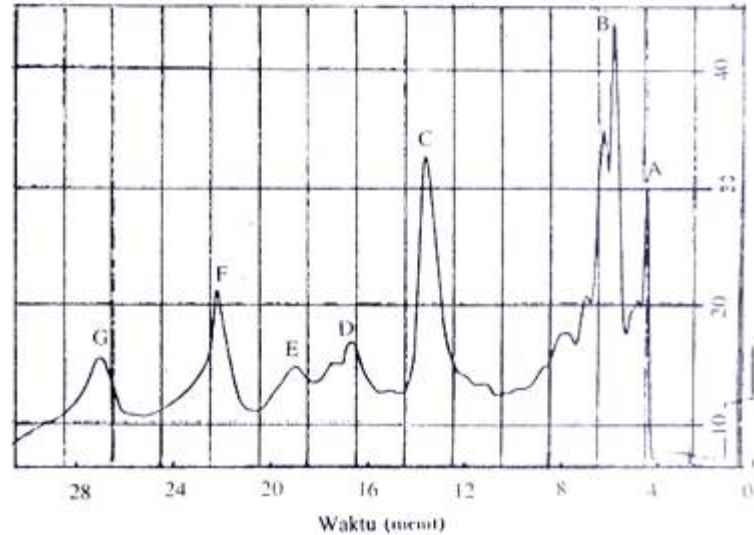
**Tabel 3. Aktifitas fraksi sep-pak cartridge dalam menghambat pertumbuhan sel leukemia L1210 dengan konsentrasi zat uji = 15 ppm**

No	Komposisi eluen (MeOH:H 20)	Kons. Zat uji (ppm)	Inhibisi (%)
1	1 : 2	15	71
2	1 : 1	15	80
3	2 : 1	15	57
4	3 : 1	15	55
5	1 : 0	15	88

Dari **Tabel 3** tersebut terlihat bahwa komposisi terakhir, yaitu elusi dengan metanol saja memberikan residu yang paling aktif menghambat pertumbuhan sel leukemia L1210, yaitu 88% untuk konsentrasi zat uji sebesar 15 ppm. Setelah perlakuan ini dilakukan berulang kali untuk memperoleh residu yang cukup, maka selanjutnya dipisahkan dengan cara kromatografi cair kinerja tinggi (KCKT) menggunakan kolom ODS semi preparatif (25 x 2,2 cm) dengan eluen campuran metanol : air = 85 : 15, detektor UV pada panjang gelombang 254 nm. Dari pemisahan ini diperoleh 7 (tujuh) bagian, yaitu A, B, C, D, E, F, dan G (**Gambar 1**). Setelah dikeringkan, masing-masing diuji bioaktivitasnya terhadap sel leukemia L1210.

Hasil pengujian disajikan pada **Tabel 4**.

Dari **Tabel 4** tersebut terlihat bahwa semua fraksi mempunyai aktivitas menghambat pertumbuhan sel leukemia L1210 dengan IC<sub>50</sub> ≤ 6,8 ppm. Usaha pemurnian lebih lanjut terhadap masing-masing fraksi untuk mendapatkan komponen murni sedang dilakukan.



**Gambar 1. Kromatogram KCKT dan residu sep-pak cartridge**

**Tabel 4. Hasil uji bioaktivitas fraksi KCKT terhadap pertumbuhan sel leukemia L1210**

Bagian	Inhibisi (%)			IC <sub>50</sub> (ppm)
	Kons. zat uji 2,5 ppm	Kons. zat uji 5 ppm	Kons. zat uji 10 ppm	
A	100	100		< 2,5
B	-	88	99	< 5
C	99	99		< 2,5
D	93	99		< 2,5
E		63	77	< 5
F		46	57	6,8
G		58	68	< 5

- : Tidak dilakukan pengujian

## KESIMPULAN

Sebanyak enam dari tujuh contoh tanaman yang diuji yaitu, tusuk konde, talatak manuk, belimbing wuluh, dadap srep, pacar cina, dan benalu masisien menunjukkan aktivitas terhadap penghambatan sel leukemia L1210 dengan nilai IC<sub>50</sub> ≤ 31 ppm, sedangkan satu tanaman yaitu kenanga hitam tidak aktif dengan IC<sub>50</sub> ≤ 100 ppm. Pemurnian lebih lanjut terhadap sari etanol daun tusuk konde dengan menggunakan *sep-pak cartridge* florisil C-18 dilanjutkan dengan KCKT diperoleh tujuh fraksi yang belum murni, yaitu fraksi A, B, C, D, E, F, dan G. Ke tujuh fraksi tersebut semuanya aktif dengan IC ≤ 6,8 ppm.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih disampaikan kepada Bp. D Made Sumatra, MS dan Sdr Hendig Winarno, M.Sc dan Lab. Kimia PAIR-BATAN yang relas, memberikan saran dan nasihatnya serta Sdri. Aryanti, B.Sc. Sdr Firdaus, dan Sdr Suhandi yang telah membantu melakukan persiapan dan bioassay.

## KEPUSTAKAAN

- Winandibrata, E. S., Pola Penderita Leukemia, Medan, 1976.
- Cordell G A. Recent experimental and clinical data concerning antitumor and cytotoxic agents from plants. Dalam : Wagner H Wolf P. 9eds.) New Natural Products and Drugs with Phaniacological. Biological or Therapeutical Activity. Springer-Verlag Pub, Berlin, 1977; hal. 54-81.

3. Reksodiputro AH, Nasution CA. Prinsip penatalaksanaan leukemia, Cermin Dunia Kedokt., 1993; 88 : 5-9.
  4. Farmer PB, Walker JM. The Molecular Basics of Cancer Chroom. Helm. London; 1985.
  5. Busch H, Lane M. Chemotherapy : An Introductory Text. Year Book Medcat Pub. inc Chicago, 1967.
  6. Fujimoto Y, Sumartono A, Sumatra M. Sesquiterpene lactones from Blumea balsamifera, Phytochemistry 1988; 27(4): 1109-13.
  7. Hargono U. Perkembangan kebijak pengaturan, pembinaan, dan pengawasan obat tradisional pelangsing. Warta Perhiba, Jakarta, 1994; 2 (4) : 2-7
  8. Dutta SK, Sanyal U, Chakraborti SK. A modified method of isolation of indicine-N-oxide from Heliorropium indicum and its antitumor activity against Ehrlich Ascites Carcinoma and Sarcoma- 180, Indian J. Cancer Chemotherapy 1987; 9 (2) : 73-7.
- 



*He who fears to suffer suffers from fear*