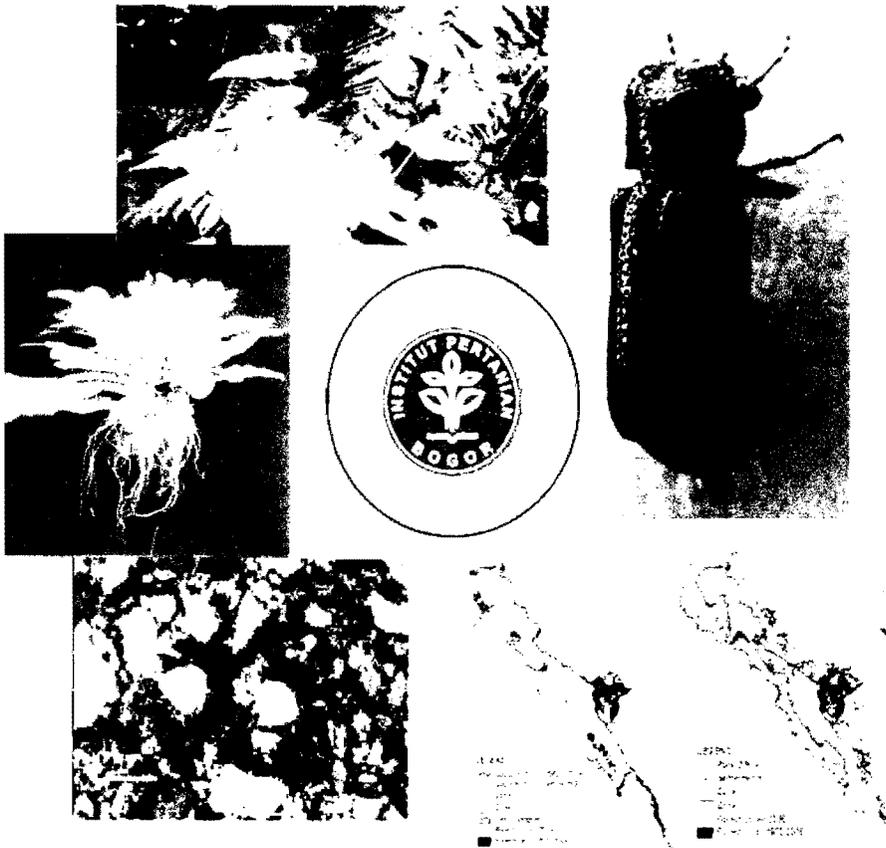


PROSIDING
SEMINAR NASIONAL SAINS II

*Peningkatan Peran Sains dalam
Pertanian dan Industri*

BOGOR, 14 NOVEMBER 2009



Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Institut Pertanian Bogor
Bogor

2009

01
02
03
04
05
06
07
08
09
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60
61
62
63
64
65
66
67
68
69
70
71
72
73
74
75
76
77
78
79
80
81
82
83
84
85
86
87
88
89
90
91
92
93
94
95
96
97
98
99
100

Copyright© 2009

Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam (FMIPA), Institut Pertanian Bogor (IPB)
Prosiding Seminar Nasional Sains: ***“Peningkatan Peran Sains dalam Pertanian dan Industri”***
Bogor, 14 November 2009

FMIPA-IPB, Jalan Meranti Kampus IPB Dramaga, Bogor 16680

Telp/Fax: 0251-8625481/8625708

<http://fmipa.ipb.ac.id>

ix + 553 halaman

ISBN: 978-979-95093-5-2

KATA PENGANTAR

Sektor pertanian dan sektor industri, khususnya industri yang menopang pertanian, merupakan tumpuan perekonomian Bangsa Indonesia. Efisiensi dan efektivitas merupakan dua hal yang harus diperhatikan dalam upaya meningkatkan produktivitas baik di sektor pertanian maupun industri. Kedua hal ini hanya mungkin dicapai secara signifikan bila berlandaskan sains dan teknologi yang tepat melalui pemahaman, pengembangan dan penerapannya yang disesuaikan dengan tuntutan dan tantangan zaman.

Banyak perguruan tinggi dan lembaga litbang departemen bahkan divisi litbang di perusahaan terus berupaya untuk meningkatkan produktivitas melalui penelitian dan pengembangan yang didasarkan pada pemanfaatan dan pengembangan sains dan teknologi. Seminar Nasional Sains II (2009) ini diharapkan menjadi sarana dan upaya untuk menjalin komunikasi antar pelaku dan institusi yang terlibat untuk mengoptimalkan pemanfaatan peran sains dalam pertanian maupun industri.

Seminar ini merupakan rangkaian dari kegiatan Pesta Sains 2009 yang diselenggarakan oleh FMIPA-IPB pada tanggal 13-15 November 2009. Selain acara seminar juga diselenggarakan kegiatan Workshop Penulisan Buku Ajar yang diikuti oleh guru-guru SMA dan dosen.

Sebanyak 60 makalah hasil penelitian dipresentasikan pada empat kelas paralel yaitu Biosains (1 & 2), Nanosains & Material, serta Penginderaan Jauh, Sensor & Pemodelan. Selain itu beberapa makalah juga ditampilkan pada sesi Poster. Makalah-makalah tersebut sebagian besar merupakan isi dari prosiding ini. Seminar dihadiri oleh peneliti dari balitbang-balitbang terkait dan dosen-dosen perguruan tinggi, mahasiswa pascasarjana serta guru-guru SMA.

Ucapan terima kasih disampaikan kepada FMIPA-IPB yang telah mendukung penuh kegiatan Seminar Nasional Sains II ini. Juga kepada Panitia Seminar dan mahasiswa dari tim Pesta Sains 2009, dan semua pihak yang telah mensukseskan acara seminar ini. Kami juga sangat berterima kasih kepada semua pemakalah atas kerjasamanya, sehingga memungkinkan prosiding ini terbit. Semoga prosiding ini bermanfaat bagi semua pihak.

Bogor, November 2009

Panitia Seminar Nasional Sains II

FMIPA-IPB Bogor

PANITIA SEMINAR NASIONAL SAINS II

Penanggung Jawab	: Dr. drh Hasim, DEA (Dekan FMIPA-IPB)
Ketua Pelaksana	: Dr. Kiagus Dahlan
Wakil Ketua Pelaksana	: Dr. Ir Ence Darmo J Supena
Sekretaris	: Dr. Ir Suryani
Bendahara	: Dr. Dyah Iswantini
Pubdok & Promosi	: Dr. Akhiruddin M (Koord.) Dr. Sri Nurdiati Faozan, M.Si Dr. Muhammad Nur Aidi
Acara & Persidangan	: Dr. Miftahuddin (Koordinator) Mersi Kurniati, M.Si
Makalah & Prosiding	: Ir. Indahwati, M.Si (Koordinator) Ir. AE Zainal Hasan, M.Si
Perlengkapan & Konsumsi	: Dr. Aris Tjahjoleksono (Koord.) Mansur Fitri Samsudin
Lokakarya Penulisan Buku Ajar	: Ali Kusnanto, M.Si (Koord.) Dr. Ir Sobri Effendy

DAFTAR ISI

No.	PENULIS	JUDUL	Hal
BIOSAINS			1
1	Mardi Santoso, M. Holil, S. Alfarisi	Pembuatan 4-Formil-2-Metoksifenil Isobutirat dari Daun Cengkeh	2
2	Christiani Tumilisar	Effect of Rodent Tuber Extract (<i>Typhonium Flagelliforme</i> (Lodd)BL.) on Cancer Cell Line Proliferation Inhibition	8
3	Samanhudi, Ahmad Yunus, Wangi Satutik	Pengaruh Macam Nutrisi dan Pemberian Ekstrak Buah Pisang terhadap Pertumbuhan Plantlet Angrek Dendrobium Secara <i>In Vitro</i>	15
4	Lisdar I. Sudirman	Potensi Jamur Pelapuk Kayu Tropis dalam Menghasilkan Senyawa Antimikroba	26
5	It Jamilah, Anja Meryandini, Iman Rusmana, Antonius Suwanto, Nisa R Mubarik	Karakterisasi Protease dan Amilase <i>Bacillus</i> sp. DA 5.2.3 yang Diisolasi dari Tambak Udang	37
6	Dyah Iswantini, Gustini Syabirin dan Yusuf Affandi S	Daya Hambat Ekstrak Air dan Etanol Keladi Tikus (<i>Typhonium flagelliforme</i>) terhadap Enzim Tirosin Kinase Secara <i>In Vitro</i>	47
7	Dyah Iswantini, Gustini Syabirin dan Maya Puspitasari S	Inhibisi Ekstrak Air dan Etanol Sambiloto (<i>Andrographis paniculata</i> [Burm.f.] Nees) terhadap Aktivitas Enzim Tirosin Kinase secara <i>In Vitro</i>	59
8	Dyah Iswantini, Latifah K Darusman dan Dede Yulianto	Inhibisi Xantin Oksidase secara <i>In Vitro</i> oleh Ekstrak Rosela (<i>Hibiscus sabdariffa</i> L.) dan Herba Ciplukan (<i>Physalis angulata</i>)	73
9	Dyah Iswantini, Latifah K Darusman dan Chintya Galuh TW	Potensi Ekstrak Tempuyung (<i>Sonchus arvensis</i>) dan Meniran (<i>Phyllanthus niruri</i>) Sebagai Anti Asam Urat: Aktivitas Inhibisinya terhadap Xantin Oksidase	89
10	Anak Agung Istri Ratnadewi, Muh.Naqib, I Nyoman Adi Winata, Laode Muh. Dzuhri Abdullah	Hidrolisis <i>Oat-Spelt Xylan</i> oleh Enzim Xilanase serta Deteksi Xilooligosakarida Secara Kromatografi	103
11	Anak Agung Istri Ratnadewi, Muhammad Naqib, Nuri, Zora Olivia	Populasi <i>Bifidobacterium</i> spp. Akibat Suplementasi Roti Tawar Berprebiotik Xilooligosakarida pada Diet Tikus <i>Rattus norvegicus</i> Berkenhout strain WISTAR	113
12	Charlena, Abdu Haris, Karwati	Degradasi Hidrokarbon pada Tanah Tercemar Minyak Bumi dengan Isolat A10 dan D8	124
13	Lucy Arianie, Ahmad Mulyadi, Afghani Jayuska	Pengaruh Pemupukan Urea Termodifikasi Lignin Terhadap Pertumbuhan Sawi	137
14	Gunawan, Tatik Chikmawati, Miftahudin, Dwi Susilaningsih	Mikroalga dari Sumber Air Panas Ciater yang Berpotensi Sebagai Sumber Biodisel	146

No.	PENULIS	JUDUL	Hal
15	Arinana, Yudi Rismayadi, Noor Farikhah Haneda	Karakterisasi Serangan Kumbang Bubuk Kayu Kering pada Kayu Konstruksi Rumah Tinggal	155
16	Abdul Rauf	Pengujian Rumput Tapak Liman (<i>Elephantopus scaber</i> L.) Sebagai Tanaman Penutup Tanah terhadap Beberapa Sifat Tanah Inceptisol dan Bibit Kelapa Sawit	161
17	Boedi Rachman dan Sata Yoshida Srie Rahayu	Pertumbuhan Kerang Mutiara Air Tawar (<i>Anodonta woodiana</i> , Lea) dengan Tipe Pemeliharaan yang Berbeda	167
NANOSAINS DAN MATERIAL			177
1	Muhammad Ali Zulfikar, Efni Novita	Penurunan Intensitas Warna Air Gambut Menggunakan Cangkang Telur	178
2	S.T. Wahyudi, J.Juansah, E.Mahrani	Karakterisasi Kekuatan Mekanik Membran Telur Ayam Kampung	185
3	Purwantiningsih Sugita, Suminar S. Achmadi, Yuyu Yundhana	Perilaku Disolusi Ketoprofen Tersalut Gel Kitosan-Karboksimetilselulosa (CMC)	192
4	Gerald E Timuda, Akhiruddin M, Irmansyah	Pengaruh Waktu Pemaparan Gelombang Ultrasonik terhadap Komposisi Fase, Ukuran dan Parameter Kisi Kristal dari Nanopartikel TiO ₂ yang Disintesis Menggunakan Metode Sonokimia	202
5	Taofik Jasa Lesmana, Akhiruddin M, Irmansyah	Pengaruh Konsentrasi Donor H ⁺ pada Polianilin Terhadap Sel Surya Hibrid ITO/CdS/Klorofil/PANI/ITO	210
6	H. Syafutra, Irzaman, H. Darmasetiawan, H. Hardhienata, F. Huriawati, M. Hikam, P. Arifin	Penumbuhan Film Tipis BST di atas Substrat Si (100) Tipe-p untuk Aplikasi Sensor Cahaya	216
7	Betty Marita Soebrata, Moh. Khotib, Maipa Diapati	Ampas Tebu Sebagai Adsorben Zat Warna Reaktif CIBACRON RED	225
8	Tetty Kemala, Emil Budianto, Bambang Soegiyono	Pembuatan dan Pencirian Polipaduan Poliasamllaktat dan Polikaprolakton Sebagai Bahan Dasar Mikrosfer	237
9	H. A.E. Zainal Hasan, I Made Artika, Vita Rosaline Fahri, Nurmala Sari	Penerapan Teknologi Nanopartikel untuk Sediaan Obat (Antibiotik Berbasis Bahan Alam, Propolis <i>Trigona spp.</i>)	247
10	Nur Aisyah Nuzulia, Akhiruddin Maddu, Kiagus Dahlan	Synthesizing and Characterization of Biphasic Calcium Phosphate Ceramic	257
11	Jajang Juansah, Mersi Kurniati, Kiagus Dahlan dan F. Jannah	Studi Membran Telur Ayam Melalui Pengukuran Listrik	265
12	Akhiruddin Maddu, Nendar Herdianto dan Irmansyah	Studi Fotoelektrokimia Elektroda Nanokristal TiO ₂ untuk Aplikasi Fotovoltaik	275

No.	PENULIS	JUDUL	Hal
13	Fifia Zulti, Kiagus Dahlan, Purwantiningsih Sugita	Sintesis dan Karakterisasi Membran untuk Filtrasi Limbah	286
14	M. Kurniati, A.L Kencana, J. Juansah, A Maddu	Perlakuan Sonikasi Terhadap Kitosan: Viskositas dan Bobot Molekul Kitosan	293
		PENGINDERAAN JAUH DAN SENSOR	302
1	Suyadi	Tropical Deforestation in Bukit Barisan Selatan National Park, Sumatra, Indonesia	303
2	M. Rahmat, Teguh P.N, H. Alatas, Irmansyah	Desain dan Fabrikasi Sensor <i>Real Time</i> berbasis Kristal Fotonik Satu Dimensi untuk Deteksi Konsentrasi Larutan Gula	318
3	Kris Sunarto	Kontribusi Survei dan Pemetaan terhadap Pembangunan Bidang Pertanian	328
4	Ucuk Darusalam, Retno W.P.	Piranti Optik Pengukur Kelimpahan Fitoplankton dengan Metoda Fluoresensi	337
5	Gunady Haryanto, Retno Wigajatri P.	Perancangan <i>Probe</i> Optik Berbasis Fluoresensi untuk Mengukur Konsentrasi Fitoplankton	350
6	Liliana Adia K, Akhirudin Maddu, Irmansyah	Pembuatan Sensor Serat Optik dengan <i>Cladding Dye Methyl Violet</i> untuk Mendeteksi Gas H ₂ S	356
7	Teguh P Negara, H Alatas	Sensor Optik Berbasis Kristal Fotonik Satu Dimensi dengan Sensitivitas Terkontrol	364
8	Jessi L Tambunan, Akhiruddin Maddu, Iriani Setyaningsih	Karakteristik Optik dan Elektronik Ekstrak Klorofil <i>Spirulina fusiformis</i>	375
9	Novita G. Pamungkas, Irzaman	Kajian Efisiensi Termal Heating Mantel untuk Penerapan Penyulingan Minyak Atsiri dari Bahan Serai Dapur	384
		PEMODELAN	389
1	Rietje J.M Bokau, Wamiliiana	Desain Model Matematika untuk Sistem Produksi Pakan Udang	390
2	Mohammad Masjkur	Perbandingan Metode Kuadrat Terkecil Linear dan Nonlinear Marquardt-Levenberg Pendugaan Model Jerapan Fosfor	400
3	Mohammad Masjkur	Perbandingan Metode Kuadrat Terkecil Marquardt-Levenberg dan Kemungkinan Maksimum EM Pendugaan Parameter Model Nonlinear Jerapan Fosfor	414
4	Muhammad Nur Aidi	Deteksi Pola Sebaran Titik Spasial Secara Reguler Melalui Penelusuran Fungsi Massa Peluang, Metode Kuadran dan Tetangga Terdekat	425
5	Aji Hamim Wigena	Penggunaan Regresi Kuadrat Terkecil Parsial dalam <i>Statistical Downscaling</i>	435

No.	PENULIS	JUDUL	Hal
6	Endar H. Nugrahani	Model Dinamika Sistem Ekonomi Berdasarkan Akumulasi Modal	440
		POSTER	450
1	Ninik Setyowati dan Nurul Sumiasri	Variasi Jenis Tanaman dalam Upaya Peningkatan Produktivitas Lahan Pekarangan di Cibinong	451
2	Mukhtar Effendi, Sehad	Peningkatan Kepekaan Sistem Deteksi Spektrometer Fotoakustik Gas Lacakan dengan Cara Optimasi Daya Laser CO ₂ yang Digunakan	460
3	Destario Metusala	Studi Waktu Aplikasi dan Dosis Herbisida Campuran Atrazine dan Mesotrione Terhadap Pertumbuhan Gulma pada Pertanaman Jagung	470
4	Agung Sri Darmayanti, Destario Metusala	Pengaruh Media Tanam Terhadap Pertumbuhan Vegetatif Cempaka (<i>Michelia Champaca</i>)	478
5	Samanhudi, Praswanto, dan Edi Dwiyono	Induksi Kalus Tanaman Mahkota Dewa (<i>Phaleria macrocarpa</i>) dengan Perlakuan Kondisi Gelap dan 2,4-D	485
6	Sarjya Antonius, Dwi Agustyani, Nurlaili, Ronald B. P. Simbolon	Sifat Biologi dan Kimia Tanah pada Beberapa Komoditas Pertanian di Malinau-Kaltim	495
7	Rini Riffiani	Pengujian Enzim Peroksidase pada Kultur Suspensi Sel <i>Raphanus sativus</i> yang Diperkaya dengan Hormon Pertumbuhan	501
8	Nurul Sumiasri, Yani Cahyani, Dody Priadi	Pengaruh berbagai Media dan Pematangan Dormansi Biji terhadap Pertumbuhan Biji Jarak Pagar (<i>Jatropha curcas L</i>)	510
9	Sudarmono	Pendekatan Konservasi Berdasarkan Variasi Genetika Populasi pada Tumbuhan: Suatu Kasus pada <i>Salvia Sp.</i> (LAMIACEAE)	521
10	Sudarmono, Sumanto	Variasi Genetika pada Populasi <i>Scutellaria Sp.</i> (Lamiaceae) di Gunung Slamet, Jawa Tengah	529
11	Sri Hartin Rahayu	Pengaruh Rhizobium dan Purninal Terhadap Pertumbuhan dan Hasil Kacang Hijau dalam Pengembangan Usahatani di Lahan Bekas Galian Emas Jampang-Sukabumi	537
12	Hartutiningsih-M. Siregar, R. S. Purwanto, Sudarmono, A. Agusta	Pengungkapan Potensi Obat pada Tiga Jenis <i>Begonia</i> Terpilih (<i>Begonia muricata</i> Blume, <i>B. multangula</i> Blume, <i>B. "Bacem Kebo"</i> .) Melalui Uji Anti Bakteri <i>Escherichia coli</i> dan <i>Staphylococcus aureus</i> Secara <i>In Vitro</i>	543
13	Eko Murniyanto	Keragaan Daun Kimpul (<i>xanthosoma sagittifolium</i> L.schoot) yang Terpapar pada Penyinaran Matahari	552

BIOSAINS



Daya Hambat Ekstrak Air dan Etanol Keladi Tikus (*Typhonium flagelliforme*) Terhadap Enzim Tirosin Kinase Secara *In Vitro*

Dyah Iswantini^{1,2}, Gustini Syabirin¹ dan Yusuf Affandi S¹

¹⁾ Departemen Kimia FMIPA IPB, Bogor. Gedung Fapet lantai 4, Jl Agathis, IPB Darmaga, Bogor.
E-mail: dyahprado@yahoo.co.id

²⁾ Pusat Studi Biofarmaka LPPM IPB, Bogor. Jl. Taman Kencana no 3 Bogor.

Abstrak

Enzim tirosin kinase berperan penting dalam perkembangan sel kanker. Senyawa-senyawa yang dapat menghambat aktivitas enzim tersebut mampu menghambat perkembangan sel kanker. Keladi tikus (*Typhonium flagelliforme*) merupakan salah satu tanaman yang memiliki potensi sebagai tanaman obat kanker. Pada penelitian ini diuji daya hambat ekstrak air dan etanol tanaman keladi tikus terhadap aktivitas tirosin kinase secara *in vitro*. Ekstrak hasil maserasi keladi tikus (kadar air 6,56%) dalam tiga pelarut, yaitu etanol 70%, air demineralisasi (akuadem), dan air panas menghasilkan nilai LC₅₀ berturut-turut sebesar 168,68; 785,27; dan 593,65 ppm. Penentuan daya inhibisi ketiga ekstrak tersebut ditentukan menggunakan metode ELISA (*enzyme linked immunosorbent assay*). Hasilnya dibandingkan terhadap genistein sebagai kontrol positif. Pada konsentrasi 300 ppm, genistein memiliki daya hambat terhadap enzim tirosin kinase sebesar 6,71% sedangkan pada konsentrasi 700 ppm sebesar 12,89%. Pada konsentrasi 700 ppm, ekstrak etanol dan air panas memiliki daya hambat masing-masing sebesar 28,49 dan 33,03%. Daya hambat terbesar berasal dari ekstrak akuadem 300 ppm, yaitu sebesar 76,10%. Adanya daya hambat tersebut menunjukkan bahwa keladi tikus berpotensi sebagai obat antikanker.

Kata kunci: Daya hambat, keladi tikus (*Typhonium flagelliforme*), enzim tirosin kinase, kanker, *in vitro*

1. PENDAHULUAN

Kanker atau tumor merupakan penyakit paling mematikan di dunia setelah jantung koroner. Setiap tahun lebih dari 10 juta orang melakukan diagnosis kanker dan menghabiskan dana sekitar \$60 milyar. Diperkirakan akan muncul 15 juta kasus baru pada tahun 2020. Kanker menyebabkan 6 juta kematian per tahun atau 12% dari populasi dunia (WHO 2004). Setiap hari 1500 orang meninggal karena kanker dan satu dari empat kematian juga disebabkan oleh kanker.

Kanker merupakan penyakit yang disebabkan oleh pertumbuhan sel-sel jaringan tubuh yang tidak normal dan tak terkontrol. Sel-sel tersebut terbentuk karena terjadinya mutasi gen sehingga mengalami perubahan baik bentuk, ukuran, maupun fungsi dari sel tubuh yang asli.

Timbulnya kelainan sel-sel tubuh diduga dipicu oleh beberapa senyawa atau zat kimia tertentu seperti karbon, makanan dan minuman instan, residu pestisida, asap rokok, radiasi nuklir, asap kendaraan, dan pola makan yang salah. Kanker juga dapat disebabkan oleh faktor genetik atau keturunan dan karsinogenik yang dihasilkan oleh tubuh sendiri secara alamiah.

Pengobatan kanker secara medis yang biasa dilakukan selama ini adalah dengan terapi pembedahan, penyinaran, dan kemoterapi. Namun pengobatan secara medis relatif mahal dan memiliki efek samping antara lain mual, pusing, diare (Simadibrata 2004), pengurangan sel darah putih (Hukom 2004), terjadinya malnutrisi (Hariani 2004), kebotakan, kulit rusak, dan nafsu makan berkurang. Hal ini menyebabkan banyak penderita kanker cenderung mencari alternatif pengobatan lain.

Penemuan tanaman-tanaman obat yang menunjukkan efek farmakologis terhadap penyakit kanker terutama yang telah mengalami uji secara ilmiah telah memberikan alternatif dalam mengatasi dan mengobati penyakit kanker. Salah satu dari tanaman obat di Indonesia yang berpotensi sebagai obat kanker adalah keladi tikus.

Penelitian sebelumnya yang telah dilakukan menunjukkan bahwa keladi tikus memiliki daya inhibisi terhadap aktivitas enzim tirosin kinase paling besar diantara tanaman obat asli Indonesia seperti mengkudu dan mahkota dewa (Iswantini, 2004). Di samping menggunakan enzim tirosin kinase, penelitian pencegahan kanker juga dapat dilakukan terhadap enzim siklooksigenase. Menurut Sivula (2005) dalam disertasinya menyebutkan bahwa NSAIDs (nonsteroidal antiinflammatory drugs) yang merupakan inhibitor selektif enzim siklooksigenase berguna untuk pencegahan atau pengobatan kanker payudara dan kerongkongan.

Ciri-ciri keladi tikus adalah berdaun tunggal yang muncul dari umbi, berwarna hijau segar, dan tersusun di roset. Panjang daun 6-16 cm, berbentuk lonjong dengan ujung menajam seperti tombak. Keladi tikus memiliki ciri khas yaitu mahkota bunganya unik mirip keladi (ekor) tikus. Bunganya muncul dari roset akar, bertangkai, panjang 4-8 cm, dan kelopak bunga bulat lonjong berwarna kekuning-kuningan. Bagian atas kelopak memanjang 5-21 cm dan ujungnya meruncing menyerupai ekor tikus. Umbi keladi tikus ini berbentuk bulat rata sebesar buah pala. Bagian dalam maupun luar umbi berwarna putih.

Enzim tirosin kinase berperan dalam mengendalikan pertumbuhan sel. Semakin banyak kadar enzim tirosin kinase atau semakin besar aktivitasnya, maka pertumbuhan sel semakin tidak terkendali akibatnya timbul tumor atau kanker.

Penelitian ini bertujuan menguji dan membandingkan khasiat ekstrak air, ekstrak air panas dan ekstrak etanol tanaman keladi tikus sebagai antikanker berdasarkan daya inhibisinya terhadap aktivitas enzim tirosin kinase.

2. METODE PENELITIAN

2.1. Penentuan Kadar Air

Cawan porselein dikeringkan pada suhu 105°C selama 30 menit kemudian didinginkan dalam eksikator dan ditimbang. Serbuk keladi tikus kering sebanyak 3 gram dimasukkan ke dalam cawan porselein dan dikeringkan dalam oven pada suhu 105°C selama 3 jam kemudian didinginkan dalam eksikator lalu ditimbang. Serbuk keladi tikus kering dalam cawan dikeringkan lagi selama 3 jam pada suhu 105°C, didinginkan lalu ditimbang kembali. Prosedur dilakukan berulang-ulang sampai diperoleh bobot yang tetap.

2.2. Ekstraksi Air Akuadem

Serbuk keladi tikus diekstrak secara maserasi dengan air akuadem lalu disaring. Filtrat yang dihasilkan kemudian dikeringkan dalam evaporator putar hingga diperoleh residu kering (ekstrak air akuadem).

2.3. Ekstraksi Air Kran

Serbuk keladi tikus ditempatkan di dalam gelas piala lalu disiram air kran yang sudah dididihkan. Selanjutnya gelas piala beserta isinya dipanaskan hingga larutan tersisa setengahnya lalu dibiarkan pada suhu ruang supaya dingin. Setelah dingin, campuran disaring dan filtratnya dikeringkan dalam evaporator putar hingga diperoleh residu kering (ekstrak air akuadem).

2.4. Ekstraksi Etanol

Serbuk keladi tikus kering diekstraksi dengan etanol 70% hingga filtrat terakhir menunjukkan hasil negatif untuk uji alkaloid kemudian disaring dan dipekatkan dengan evaporator putar.

2.5. Uji Fitokimia (Metode Harborne 1996)

Uji Alkaloid. Sebanyak 1 gram ekstrak dilarutkan dengan kloroform dan beberapa tetes NH₄OH kemudian disaring dalam tabung reaksi tertutup. Ekstrak kloroform dalam tabung reaksi dikocok dengan 10 tetes H₂SO₄ 2 M lalu lapisan asamnya dipisahkan dalam tabung reaksi yang lain. Lapisan asam ini diteteskan pada lempeng tetes dan ditambahkan

pereaksi Dragendorff, Mayer dan Wagner yang akan menimbulkan endapan dengan warna berturut-turut merah jingga, putih, dan coklat.

Uji Terpenoid dan Steroid. Sebanyak 2 gram ekstrak tanaman dilarutkan dengan 25 mL etanol panas (50°C) kemudian disaring kedalam piringan porselin lalu diuapkan sampai kering. Residu ditambahkan eter lalu ekstrak eter dipindahkan ke dalam lempeng tetes kemudian ditambahkan 3 tetes anhidrida asam asetat dan 1 tetes H₂SO₄ pekat (Uji Lieberman-Buchard). Warna merah atau ungu menunjukkan kandungan triterpenoid sedangkan warna hijau atau biru menunjukkan kandungan steroid.

Uji Saponin. Sebanyak 1 gram ekstrak tanaman dimasukkan ke dalam gelas piala dan ditambahkan 100 mL air panas lalu dididihkan selama 5 menit kemudian disaring dan filtrat digunakan untuk pengujian. Uji saponin dilakukan dengan pengocokan 10 mL filtrat di dalam tabung tertutup selama 10 menit. Timbulnya busa hingga selang waktu 10 menit (buih stabil) menunjukkan adanya saponin.

Uji Kuinon. Sebanyak 1 gram ekstrak tanaman ditambah 100 mL air panas, dididihkan selama 5 menit lalu disaring. Ke dalam 10 mL filtrat ditambahkan beberapa tetes NH₄OH 1N. Warna merah yang terbentuk menunjukkan adanya kuinon.

Uji Tanin. Sebanyak 1 gram ekstrak tanaman ditambahkan 100 mL air panas, dididihkan selama 5 menit lalu disaring. Sebagian filtrat ditambahkan FeCl₃. Terbentuknya warna biru tua atau hitam kehijauan menunjukkan terdapatnya tanin.

Uji Toksisitas Larva Udang (penentuan nilai LC₅₀). Telur udang ditetaskan dalam gelas piala berisi 200 mL air laut dan dilengkapi dengan aerator. Setelah dua hari, telur udang akan menetas menjadi *naupili* atau larva udang. Ekstrak kasar ditimbang dan dilarutkan dalam air laut sehingga didapatkan konsentrasi 10, 100, 500, dan 1000 ppm. Sebanyak 10 ekor larva udang ditempatkan pada masing-masing sumbu yang telah diberi ekstrak. Jumlah larva udang yang mati dihitung setelah 24 jam. Data yang didapat dianalisis menggunakan program 'Analisis Probit' dengan derajat kepercayaan 95 % untuk mendapatkan nilai LC₅₀. Sebagai kontrol digunakan air laut tanpa penambahan ekstrak (Meyer *et al.* 1982).

2.6. Penentuan Daya Inhibisi Ekstrak terhadap Aktivitas Enzim Tirosin Kinase

Pelarut BTK dengan konsentrasi 1x dibuat dengan cara sebanyak 1 mL BTK konsentrasi 10x dilarutkan dengan 9 mL air deionisasi. Sebanyak 32,5 µL EGFR (130U) dicairkan kemudian ditambahkan 292,5 µL BTK (1x) (setiap 10 µL mengandung 4U).

Campuran ini diaduk lalu disimpan dalam es. Larutan stok ATP dicairkan kemudian sebanyak 128 μL larutan ATP dilarutkan dengan 3,2 mL BTK (1x), dicampurkan lalu disimpan dalam es.

Disiapkan tiga buah vial yang berukuran 600 μL untuk masing-masing ekstrak, satu vial untuk kontrol EGFR dan satu vial untuk genistein. Sebanyak 20 μL EGFR dimasukkan ke dalam setiap vial, lalu ditambahkan 20 μL ekstrak 300 ppm untuk vial khusus sampel, 20 μL genistein untuk vial khusus kontrol, dan 20 μL air bebas ion sebagai kontrol EGFR (kontrol negatif). Setiap vial diinkubasi di dalam es selama 10 menit.

Sebanyak 90 μL BTK (1x) yang mengandung ATP dimasukkan ke dalam masing-masing sumur. Sebagai blanko digunakan 20 μL BTK (1x) yang dimasukkan ke dalam sumur. Untuk kontrol digunakan EGFR sebanyak 20 μL (4U) dan sampel yang diuji, dilarutkan dengan perbandingan 1:1 atau 1:2 dan seterusnya dalam BTK. Konsentrasi akhir ATP dalam reaksi PTK adalah 0,3 mM. Setelah itu sumur-sumur ditutup dan diinkubasi pada temperatur kamar selama 30 menit. Campuran dikeluarkan dari masing-masing sumur lalu sumur dicuci dengan 200 μL buffer pencuci hingga lima kali pengulangan. Setelah itu sebanyak 100 μL larutan antibodi konjugat HRP dengan pelarutan yang tepat dimasukkan ke dalam sumur. Sumur ditutup dan diinkubasi selama 30 menit pada temperatur ruangan.

Larutan substrat peroksidase segar dibuat dengan cara pelarutan satu tablet *O-Phenylenediamine* (OPD) dan satu tablet urea hidrogen peroksida dalam 20 mL air deionisasi, dicampurkan sampai larut dan hindarkan dari cahaya sampai digunakan, larutan ini tidak untuk disimpan. Setelah itu, larutan antibody dikeluarkan dari sumur kemudian masing-masing sumur dicuci dengan 200 μL buffer pencuci. Pencucian dilakukan lima kali. Selanjutnya sebanyak 100 μL larutan substrat OPD segar ditambahkan pada masing-masing sumur dan diinkubasi selama tujuh menit dalam keadaan gelap pada suhu ruangan. Warna oranye-kuning akan muncul dalam sumur yang positif. Reaksi dihentikan dengan penambahan 100 μL H_2SO_4 2,5 N pada masing-masing sumur. Sumur diukur serapannya pada 492 nm. Pengukuran harus dalam waktu 30 menit dalam mikroplat ELISA yang ditetapkan pada hari penambahan larutan penghenti.

3. HASIL DAN PEMBAHASAAN

3.1. Kadar Air

Tanaman keladi tikus yang masih segar memiliki kadar air sebesar 92,41% (Tabel 1). Hasil tersebut diperoleh setelah mengeringkan tanaman itu dalam oven bersuhu 40 $^{\circ}\text{C}$

selama tujuh hari. Suhu oven diatur agar tidak melebihi nilai tersebut. Hal ini dimaksudkan agar kandungan komponen-komponen kimiawinya tidak rusak.

Nilai kadar air berguna untuk memperkirakan bobot kering yang akan diperoleh dari sejumlah sampel basah keladi tikus. Berdasarkan Tabel 1, maka 100 g sampel basah keladi tikus akan menghasilkan 7,59 g bobot kering.

Tabel 1. Kadar air tanaman keladi tikus

Keladi tikus	Kadar air (%)
Sampel segar	92,41
Sampel kering	6,56

Kadar air sampel yang akan digunakan perlu diperiksa terlebih dahulu. Kandungan air dalam suatu bahan memengaruhi daya tahannya terhadap serangan mikroba sehingga dapat diperkirakan cara penanganan terbaik bagi sampel dalam hal tempat dan waktu penyimpanan. Bila kandungan air yang terkandung dalam suatu bahan berkisar antara 3 sampai dengan 7%, maka kestabilan optimum bahan akan tercapai dan pertumbuhan mikrob dapat dikurangi sehingga dapat memperpanjang masa simpan tanaman kering (Winarno 1997). Sampel kering keladi tikus yang digunakan memiliki kadar air sebesar 6,56%, kadar air yang kurang dari 10 % ini cukup baik bila sampel ini disimpan sehingga tidak mudah terkontaminasi oleh mikroba.

3.2. Ekstraksi

Metode yang digunakan untuk proses ini adalah maserasi. Hal ini bertujuan mencegah rusaknya senyawa metabolit sekunder yang tidak tahan terhadap suhu tinggi. Pelarut yang digunakan dalam ekstraksi tanaman keladi tikus adalah air kran, akuadem, dan etanol 70%.

Pada awal proses maserasi, seluruh serbuk keladi tikus yang akan digunakan, direndam menggunakan heksana. Hal ini dilakukan untuk menghilangkan komponen lemak yang mungkin akan mengganggu proses penanganan ekstrak selanjutnya. Digunakannya beberapa pelarut yang berbeda dimaksudkan untuk melihat pengaruh perbedaan kepolaran dari pelarut terhadap kandungan senyawa kimia dalam hasil ekstraksi. Etanol memiliki dua gugus yang berbeda kepolarannya yaitu gugus hidroksil yang bersifat polar dan gugus alkil yang bersifat non polar. Adanya dua gugus tersebut diharapkan senyawa-senyawa dengan tingkat kepolaran berbeda akan terekstrak ke dalam etanol. Selain itu, produksi skala industri biasanya menggunakan pelarut etanol. Pelarut air digunakan selain karena pendekatan aplikasi dalam masyarakat, juga karena air lebih bersifat polar dibandingkan dengan etanol sehingga dapat menarik senyawa yang memiliki tingkat kepolaran tinggi.

Serbuk keladi tikus diseduh dengan air mendidih lalu diaduk sampai dingin kemudian disaring. Hal ini didasari oleh pemakaian tradisional rimpang sebagai obat, yaitu dengan cara diseduh. Ekstrak etanol 70% yang dihasilkan berbentuk *oily* berwarna hijau kecoklatan dengan rendemen sebesar 1,02%. Rendemen dari ekstrak air demineral dan ekstrak air panas diperoleh masing-masing sebesar 1,07%.

3.3. Kandungan Fitokimia

Uji fitokimia pada sampel segar dan kering membuktikan bahwa proses pengeringan sampel pada suhu 40 °C ternyata tidak merusak kandungan senyawa metabolit sekundernya. Hal ini dibuktikan dengan adanya alkaloid, triterpenoid, saponin, dan tanin baik dalam sampel segar maupun dalam sampel kering.

Tanin terdapat dalam sampel segar keladi tikus, sampel kering, ekstrak etanol, ekstrak akuadem, dan ekstrak air panas. Dapat dikatakan bahwa tanin pada keladi tikus adalah tanin yang bersifat non polar dan polar.

Tabel 2 Hasil penapisan fitokimia

Sampel	S	K	E	A	P
Alkaloid	+++	+	-	++	+
Triterpenoid	+++	+	-	++	+
Steroid	+++	-	-	-	+
Saponin	+++	-	-	+	+
Tanin	+++	-	-	+	+
Kuinon					

Keterangan:
 S : Segar (+) : Hasil positif
 K : Kering (-) : Hasil negatif
 E : Etanol 70%
 A : Akuadem
 P : Air panas

Tabel 2 menunjukkan saponin terdapat pada sampel segar, sampel kering, ekstrak akuadem, dan ekstrak air panas. Saponin tidak terdapat pada ekstrak etanol mungkin karena etanol kurang bersifat polar dibandingkan dengan air. Jadi saponin yang terdapat dalam keladi tikus bersifat polar sehingga hanya terekstrak oleh air. Keberadaan saponin di dalam ekstrak akuadem diduga menyebabkan tingginya daya inhibisi ekstrak tersebut. Saponin diketahui dapat mengakibatkan hemolisis darah (Harborne 1996).

Kuinon hanya ditemukan pada ekstrak etanol sedangkan pada sampel segar keladi tikus, sampel kering, ekstrak akuadem, dan ekstrak air panas tidak ditemukan. Hal ini menunjukkan bahwa kuinon dalam keladi tikus bersifat non polar. Pada pengujian fitokimia sampel segar dan sampel kering, kedua sampel tersebut hanya diseduh oleh air panas sehingga kuinon tidak terekstrak karena senyawa tersebut bersifat non polar. Disamping itu, sebelum sampel diekstrak oleh etanol, sampel dicuci terlebih dahulu menggunakan heksana. Akibatnya lemak-lemak yang mengganggu dapat dihilangkan sehingga kuinon yang bersifat non polar dan jumlahnya relatif sedikit dapat terekstrak oleh etanol.

3.4. Uji Toksisitas Larva Udang

Hasil pengujian menunjukkan bahwa ekstrak etanol 70%, ekstrak air panas, dan ekstrak akuadem diduga mengandung senyawa bioaktif yang bersifat toksik karena nilai LC50 nya kurang dari 1000 ppm, yaitu berturut-turut sebesar 168,68, 593,65, dan 785,27 ppm. Dugaan tersebut didasarkan pada pernyataan Meyer *et al* 1982, yang menyatakan bahwa senyawa yang mempunyai nilai LC50 lebih kecil dari 1000 ppm dikatakan memiliki potensi bioaktivitas. Senyawa bioaktif adalah senyawa kimia yang dapat memberikan efek atas jaringan biologi, yang selanjutnya diharapkan dapat bermanfaat sebagai obat yang mampu menghambat perkembangan mikroorganisme penyebab penyakit bahkan mampu membunuh mikroorganisme tersebut. Hal ini mengindikasikan bahwa ketiga ekstrak tersebut memiliki aktivitas yang dapat mempengaruhi fungsi fisiologis dari organ, jaringan, atau sel jika digunakan serta sangat berpotensi sebagai obat. Hasil penelitian berbagai lembaga penelitian di Malaysia dan beberapa negara menunjukkan bahwa sari keladi tikus dapat menghambat pertumbuhan dan menghancurkan sel kanker serta menghilangkan efek buruk kemoterapi (Novalina 2003).

Sebagian besar tanaman yang memiliki nilai toksisitas yang tinggi memiliki potensi sebagai antikanker, karena toksisitas yang dimilikinya tersebut dapat pula bekerja pada fase tertentu dari siklus sel tumor. Menurut Meyer *et al.* (1982), suatu ekstrak atau fraksi dari suatu tanaman dianggap memiliki efek positif terhadap uji kematian larva udang jika LC50nya kurang dari 1000 ppm, hanya spectrum keaktifannya masih sangat luas. Uji toksisitas larva udang tidak spesifik untuk antitumor, akan tetapi kemampuannya untuk mendeteksi 14 dari 24 ekstrak *Euphorbiaceae* yang aktif terhadap uji 9PS dan mendeteksi 2 dari 6 spesies yang aktif terhadap uji 9KB memungkinkan uji toksisitas larva udang dapat digunakan sebagai uji praskrining senyawa bioaktif.

3.5. Uji Daya Inhibisi terhadap Enzim Tirosin Kinase

Konsentrasi yang digunakan pada pengujian ini adalah konsentrasi yang berada di bawah nilai LC50 dari tiap ekstrak. Hal ini dilakukan untuk mengetahui daya hambat aktivitas enzim pada keadaan yang praktis tidak toksik (*practically non toxic*), sehingga dapat diketahui tingkat kekuatan dari ekstrak yang digunakan pada kondisi yang paling aman bagi tubuh. Penelitian terdahulu yang dilakukan menunjukkan bahwa konsentrasi optimum ekstrak keladi tikus sebesar 300 ppm (Swantini 2004). Konsentrasi yang digunakan dalam pengujian sebesar 300 ppm dan 700 ppm untuk masing-masing ekstrak.

Pengujian dilakukan dengan kontrol negatif (tanpa penambahan ekstrak) dan kontrol positif (mengandung genistein pada konsentrasi 300 ppm dan 700 ppm). Hasil yang diperoleh berupa nilai absorbansi dari aktivitas enzim tirosin kinase. Semakin kecil nilai absorbansi yang dihasilkan (Gambar 1) menunjukkan daya inhibisi yang semakin besar terhadap aktivitas enzim tirosin kinase karena produk yang dihasilkan oleh enzim tersebut akan semakin sedikit. Hal ini dilihat dari intensitas warna dari produk yang semakin pudar.

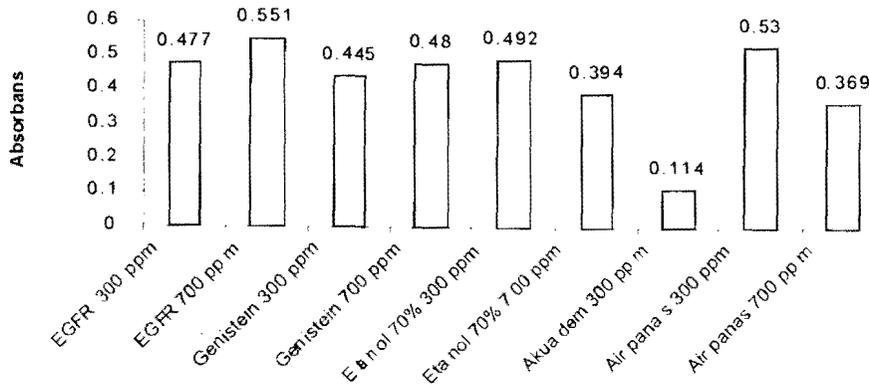
Hasil uji menunjukkan bahwa ekstrak kasar etanol 70% dan ekstrak kasar air panas keladi tikus pada konsentrasi 300 ppm tidak memiliki daya hambat terhadap aktivitas enzim tirosin kinase. Hal ini terlihat dari daya inhibisi yang bernilai negatif atau dibawah kontrol negatif (EGFR). Adapun ekstrak kasar air demineral pada konsentrasi 300 ppm memiliki daya inhibisi sebesar 76,1%. Nilai tersebut lebih besar dari nilai daya inhibisi kontrol positif genistein pada konsentrasi 300 ppm yaitu sebesar 6,71% (Gambar 2).

Nilai daya inhibisi untuk ekstrak kasar keladi tikus etanol 70% dan air panas pada konsentrasi 700 ppm secara berturut-turut adalah sebesar 28,49 dan 33,03% (Gambar 2). Daya inhibisi terhadap aktivitas enzim tirosin kinase untuk kedua ekstrak diatas melebihi nilai daya inhibisi pada kontrol positif genistein konsentrasi 700 ppm yaitu sebesar 12,89% dan daya inhibisi kedua ekstrak pada konsentrasi 300 ppm. Berdasarkan nilai diatas, maka dapat dinyatakan bahwa ekstrak kasar akuadem pada konsentrasi 300 ppm memiliki daya hambat yang paling besar terhadap aktivitas enzim tirosin kinase.

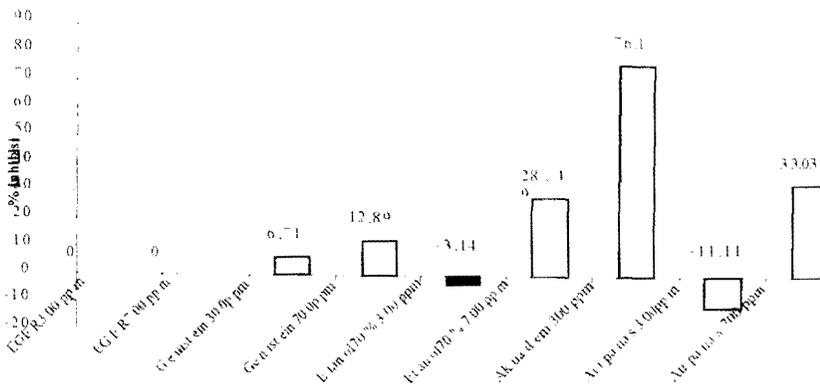
Keberadaan beberapa senyawa metabolit sekunder pada ekstrak kasar yang diujikan, diduga memiliki peran tersendiri dalam menghambat aktivitas enzim tirosin kinase. Alkaloid yang berasal dari tanaman obat diketahui memiliki efek toksisitas terhadap sel kanker (Alexandrova *et al.* 2000), dapat menginduksi apoptosis pada sel kanker manusia serta terbukti efektif dan ampuh untuk pengobatan pasien kanker payudara metastatik. Oleh karena itu, alkaloid yang terkandung dalam ekstrak kasar tanaman diduga memiliki peran

tertentu dalam menghambat aktivitas enzim tirosin kinase.

Ekstrak akuadem 300 ppm, etanol 700 ppm, dan air panas 700 ppm menunjukkan sifat inhibitor yang cukup baik terhadap aktivitas enzim tirosin kinase bahkan memiliki daya hambat yang lebih besar dari pada kontrol positif genistein. Hal ini sangat berguna sebagai bukti ilmiah pada kajian beberapa tanaman yang berpotensi sebagai antikanker.



Gambar 1. Nilai absorbans hasil uji ELISA



Gambar 2. Nilai persen inhibisi ekstrak terhadap aktivitas tirosin kinase.

4. KESIMPULAN

Tanaman keladi tikus mengandung senyawa-senyawa seperti alkaloid, triterpenoid, saponin, tanin, dan kuinon. Tanaman keladi tikus segar memiliki kandungan air sebesar 92,41%. Rendemen yang dihasilkan bila keladi tikus diekstrak menggunakan pelarut etanol 70%, akuadem, dan seduhan air kran berturut-turut sebesar 1,02, 1,07, dan 1,07%.

Tanaman keladi tikus berpotensi menghambat aktivitas enzim tirosin kinase pada konsentrasi tertentu. Ekstrak kasar air demineral pada konsentrasi 300 ppm mempunyai daya inhibisi sebesar 76,10%. Pada konsentrasi ekstrak yang lebih tinggi yaitu 700 ppm, ekstrak etanol 70% mempunyai daya hambat sebesar 28,49% sedangkan ekstrak air panas 700 ppm sebesar 33,03%.

DAFTAR PUSTAKA

- Alexandrova R, Varadinova T, Velcheva M, Genova P. 2000. Cytotoxic Effect of Isoquinoline Alkaloid on Tumor Cell Lines. *Experimentl Pathol Parasit* 4: 8-14.
- Cancer Information Service. 2002. Genetic testing for BRCA1 and BRCA2: its your choice. <http://cis.nci.nih.gov/fact/3-62.htm>.
- Dalimartha S. 1998. *Atlas Tumbuhan Obat Indonesia*. Jilid 1. Jakarta: Trubus.
- Dardanella D. 2005. Penapisan beberapa tanaman asli Indonesia yang berpotensi sebagai antikanker secara enzimatis [Skripsi]. Bogor: Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Institut Pertanian Bogor.
- Dixon RA, Ferreira D. 2002. Molecules of Interest. *Phytochemistry* 60:205-211.
- Harborne JB. 1996. *Metode Fitokimia: Cara Menganalisis Tanaman*. Terjemahan K. Padmawinata & I Sudiro. Bandung: ITB Pr.
- Hariani R. 2004. Dukungan Nutrisi pada Penderita Kanker dengan Malnutrisi. *Seminar Sehari RS Kanker Dharmais*, 18 September 2004.
- Herba. 2003. Panduan Pengembangan Tanaman Obat. <http://www.karyasari.com> [1 Juni 2005]
- Hukom RA. 2004. Transfusi Komponen Darah pada Penderita Kanker. *Seminar Sehari RS Kanker Dharmais*, 18 September 2004.
- Iswantini D, Latifah K Darusman dan Dany Dardanella, 2004, Uji aktivitas anti kanker dari mengkudu (*Morinda citrifolia*) secara enzimatis dan perbandingannya dengan tanaman obat lain, *Prosiding seminar Nasional XXV Tumbuhan Obat Indonesia*, Karanganyar-Indonesia, 1-7. ISBN. No 979-8486-08-0.
- LIPI. 1978. *Tumbuhan Obat*. Bogor: Lembaga Biologi Nasional-LIPI.
- Mangan Y. 2003. *Cara Bijak Menaklukkan Kanker*. Jakarta: Agromedia Pustaka.
- Meyer et al. 1982. Brine Shrimp: A Convenient General Bioassay for Active Plant Constituents. *Planta Med* 45: 31-34.

- Novalina SP. 2003. Penggunaan Tanaman Obat Sebagai Upaya Alternatif dalam Terapi Kanker. [Makalah Pribadi]. http://rudycr.topcities.com/ppp702_1034/novalina.htm [1 April 2005]
- Sivula A. 2005. *Prognostic Significance of Cyclooxygenase-2 in Breast and Esophageal Carcinoma*. Helsinki: Helsinki Univ.
- Simadibrata M. 2004. Diare dan Konstipasi Akibat Kemoterapi. *Seminar Sehari RS Kanker Dharmais*. 18 September 2004.
- Soedibyo M. 1993. *Inventaris Tanaman Obat Indonesia (II)*. Jakarta: Depkes RI.
- Sudewo B. 2004. *Tanaman Obat Populer*. Jakarta: Agromedia Pustaka.
- Supretno B. 2005. Keladi Tikus. <http://GajahSora.com> [13 Juni 2005]
- Syukur C dan Hernani. 2001. *Budi Daya Tanaman Obat Komersial*. Bogor: Penebar Swadaya.
- Voller A, Bidwell DE, Bartlett A. 1979. Microplate enzyme immunoassay for the immunodiagnosis of virus infections. Di dalam Rose NR, Friedman H, editor. *Manual of Clinical Laboratory Immunology*. Ed ke-3. Washington: American Society for Microbiology.
- Wijayakusuma HMH. 1997. *Hidup Sehat Secara Hembing*. Buku 6. Jakarta: Gramedia.
- Winarno FG. 1997. *Kimia Pangan dan Gizi*. Jakarta: Gramedia.
- WHO. 2004. Cancer. <http://www.who.com.int/cancer> [1 April 2005]

Inhibisi Ekstrak Air dan Etanol Sambiloto (*Andrographis paniculata* [Burm.f.] Nees) terhadap Aktivitas Enzim Tirosin Kinase secara *In Vitro*

Dyah Iswanti^{1,2}, Gustini Syabirin¹ dan Maya Puspitasari¹

¹) Departemen Kimia FMIPA IPB, Bogor. Gedung Fapet lantai 4, Jl Agathis, IPB Darmaga, Bogor
E-mail: dyahprado@yahoo.co.id

²) Pusat Studi Biofarmaka LPPM IPB, Bogor. Jl. Taman Kencana no 3 Bogor.

Abstrak

Enzim tirosin kinase merupakan enzim pengatur pertumbuhan sel-sel dalam tubuh. Aktivitas berlebihan dari enzim ini akan menyebabkan pertumbuhan sel menjadi tidak terkendali dan dapat memicu pertumbuhan sel-sel kanker. Sambiloto (*A. paniculata* [Burm.f.] Nees) merupakan tumbuhan yang berpotensi sebagai antikanker. Dengan pendekatan penghambatannya terhadap enzim tirosin kinase oleh ekstrak sambiloto, maka penelitian ini bertujuan untuk menguji daya inhibisi dari ekstrak sambiloto terhadap aktivitas tirosin kinase secara *in vitro* menggunakan metode *enzyme linked immunosorbent assay* (ELISA). Daya inhibisi yang diperoleh dibandingkan dengan daya hambat genistein sebagai kontrol positif. Ekstraksi sambiloto dilakukan dengan menggunakan pelarut etanol 70%, akuadem, dan air. Hasil menunjukkan bahwa ekstrak akuadem dan ekstrak air mengandung alkaloid, flavonoid, tanin, dan terpenoid, sedangkan ekstrak etanol hanya mengandung alkaloid dan terpenoid. Toksisitas ekstrak etanol lebih tinggi dari ekstrak air dan akuadem dengan nilai LC_{50} berturut-turut 427,93; 873,51 dan 2.062 ppm. Daya hambat ekstrak akuadem (70,12%) lebih tinggi dari ekstrak etanol (67,05%) dan ekstrak air (64,52%). Ketiga ekstrak ini mampu menghambat aktivitas tirosin kinase lebih tinggi dari genistein (6,02%) pada konsentrasi 300 ppm. Maka ketiga ekstrak tersebut berpotensi sebagai antikanker.

Kata kunci: inhibisi, sambiloto (*A. paniculata* [Burm.f.] Nees), enzim tirosin kinase, kanker, *in vitro*

1. PENDAHULUAN

Penyakit kanker selama ini sangat ditakuti oleh kebanyakan orang. Hal ini disebabkan oleh penyakit kanker berbahaya dan masih sukar untuk disembuhkan dan juga kanker adalah salah satu penyakit paling mematikan di dunia setelah jantung koroner. Lebih dari 10 juta orang terdiagnosis kanker tiap tahunnya. Diperkirakan akan timbul 15 juta kasus baru yang akan muncul tiap tahunnya pada 2020. Kanker menyebabkan 6 juta kematian tiap tahunnya, atau 12% dari populasi dunia sampai saat ini (WHO 2004).

Sampai saat ini, pengobatan penyakit kanker memerlukan biaya yang sangat besar dan menimbulkan efek samping karena selain membunuh sel kanker juga membunuh sel normal. Teknik pengobatannya antara lain radioterapi, kemoterapi, imunoterapi, terapi gen, dan pembedahan. Efek samping yang biasa ditimbulkan misalnya

mual, pusing, dan diare (Simadibrata 2004), terjadinya malnutrisi (Hariani 2004), pengurangan sel darah putih (Hukom 2004), serta kebotakan. Oleh karena itu, banyak penderita kanker cenderung mencari tanaman obat yang berkhasiat sebagai obat alternatif antikanker.

Enzim protein kinase memainkan peranan vital dalam pengaturan pertumbuhan dan diferensiasi sel. Aktivitas tirosin kinase sebagai reseptor faktor pertumbuhan dan produk protein onkogen sangat penting bagi perbanyakan sel. Inhibitor spesifik yang ditargetkan pada wilayah aktivitas tirosin kinase dapat berpotensi sebagai obat anti-perkembangbiakan. Salah satu inhibitor tirosin kinase yang telah diketahui ialah kelompok isoflavin alami, yaitu genistein dan daidzein (Challem 2002).

Tanaman yang telah terbukti secara ilmiah dalam mengatasi dan mengobati penyakit kanker adalah temu putih (*Curcuma zedoaria* (Berg) Roscoe) dengan daya inhibisi terhadap tirosin kinase mencapai 93,4% (Iswantini D. *et al.* 2003 dan Iswantini D, *et al.* 2008). Penelitian selanjutnya menunjukkan bahwa di antara ekstrak kasar flavonoid, keladi tikus, mahkota dewa, meniran dan buah mengkudu mempunyai daya inhibisi yang cukup berarti terhadap tirosin kinase (Iswantini D, *et al.* 2004).

Sambiloto (*Andrographis paniculata* [Burm.f.] Nees) adalah tanaman lain yang diduga sebagai antikanker yang akan diuji dalam penelitian ini. Senyawa aktif sambiloto ada yang sudah dipatenkan sebagai antikanker, yaitu dengan nomor paten 6.576.662; 6.486.196; 6.410.590 dan 5.833.994 (Nanduri *et al* 2002). Sambiloto merupakan salah satu spesies yang diketahui mempunyai khasiat medis sejak abad 18. Beberapa khasiat tanaman ini antara lain sebagai obat antiradang, analgesik, antipiretik, dan antibakteri (WHO 1999). Kandungan *andrografolida* di dalamnya mampu memperkuat sistem pertahanan tubuh dengan meningkatkan produksi sel darah putih yang akan menyerang bakteri, mampu memicu produksi interferon yang merupakan protein spesifik (sitokin) yang dibuat oleh sel sebagai respons adanya benda asing terhadap bakteri. *Andrografolida* selain tidak bersifat toksik pada manusia juga tidak mempunyai efek samping, seperti agen kemoterapi konvensional yang lain.

Pengujian sambiloto sebagai antikanker dilakukan secara *in vitro* dengan melihat kemampuan ekstrak air kran, akuadem (akua-demineral) dan etanol 70% dalam menghambat aktivitas tirosin kinase. Alasan pemilihan jenis pelarut air karena pelarut ini biasa digunakan oleh masyarakat dalam memanfaatkan tanaman berkhasiat obat. Penggunaan akuadem bertujuan melihat dan membandingkan apakah mineral yang ada dalam air kran mempengaruhi daya inhibisinya terhadap tirosin kinase. Pelarut air dan etanol 70% adalah pelarut yang diperbolehkan digunakan untuk produksi pangan dan farmasi agar produk yang dihasilkan aman untuk dikonsumsi.

- Taniguchi A, Kohsaka H, Carson DA. 1994. Competitive RT-PCR ELISA: a rapid, sensitive and non-radioactive method to quantitate cytokine mRNA. *J Immunol Methods* 169:101-9. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query> [17 Desember 2005].
- Voller A, Bidwell DE, Bartlett A. 1986. Microplate enzyme immunoassay for the immunodiagnosis of virus infections. Di dalam Rose NR, Friedman H, editor. *Manual of Clinical Laboratory Immunology*. Ed ke-3. Washington: American Society for Microbiology.
- Winarno FG. 1997. *Kimia Pangan dan Gizi*. Jakarta: Gramedia Pustaka Utama.
- WHO. 2004. Cancer. <http://www.who.com.int/cancer> [1 April 2005].
- WHO. 1999. WHO monographs on selected medical plants. <http://hinfo198.tempdomainname.com/gsd12/collect/edmweb/pdf/s4927e/s4927e.pdf> [17 Desember 2005].

Penelitian ini bertujuan menentukan ekstrak kasar teraktif sebagai antikanker melalui pengukuran daya inhibisinya pada tirosin kinase menggunakan *enzyme linked immunosorbent assay* (ELISA). Analisis ini diharapkan bermanfaat bagi masyarakat karena dapat memberikan informasi mengenai khasiat ekstrak sambiloto sebagai antikanker. Hipotesis penelitian ini adalah terdapat perbedaan nyata daya inhibisi dari ketiga ekstrak yang digunakan sehingga dapat ditetapkan ekstrak sambiloto teraktif.

2. METODE PENELITIAN

Penelitian ini terdiri atas tiga bagian, yaitu (1) Analisis bahan, ekstraksi, penentuan rendemen, dan uji fitokimia ekstrak; (2) Uji toksisitas ekstrak dengan menggunakan nilai LC_{50} ; (3) Penentuan daya inhibisi ekstrak terhadap aktivitas tirosin kinase.

2.1. Analisis bahan, ekstraksi, penentuan rendemen, dan uji fitokimia ekstrak

2.1.1. Analisis Bahan: Pengeringan dan Penentuan Kadar Air

Sambiloto yang sudah dicuci, diiris tipis dan dikeringkan dalam oven suhu 40 °C sampai diperoleh kadar air $\pm 10\%$, kemudian digiling sampai menjadi serbuk berukuran 40 mesh. Serbuk sampel kering yang diperoleh digunakan untuk proses ekstraksi.

Cawan porselin dikeringkan pada suhu 105 °C selama 30 menit kemudian didinginkan dalam eksikator dan ditimbang. Serbuk sambiloto kering sebanyak 3 gram dimasukkan ke dalam cawan porselin dan dikeringkan dalam oven pada suhu 105 °C selama 3 jam, kemudian didinginkan dalam eksikator, dan ditimbang. Serbuk sambiloto dalam cawan dikeringkan lagi selama 1 jam pada suhu 105 °C, didinginkan, dan ditimbang kembali. Prosedur dilakukan berulang-ulang sampai diperoleh bobot yang tetap.

2.1.2. Ekstraksi

2.1.1.1. Ekstraksi Akuadem

Serbuk sambiloto kering dimaserasi selama dua hari dengan akuadem (1:4) lalu disaring. Ekstraksi dilakukan tiga kali pengulangan. Filtrat yang dihasilkan kemudian dipekatan dalam rotari evaporator. Hasil pemekatan dikeringkan menggunakan metode pengering beku (*freeze-dried*). Selanjutnya, ekstrak ini digunakan untuk penentuan nilai LC_{50} dan pengujian daya inhibisi terhadap tirosin kinase.

2.1.1.2. Ekstraksi Air Kran

Serbuk sambiloto kering diseduh dengan air kran (1:4) yang mendidih. Didiamkan hingga dingin, kemudian disaring. Ekstraksi dilakukan tiga kali pengulangan. Hasil pemekatan dikeringkan menggunakan metode pengering beku (*freeze-dried*). Selanjutnya,

- Hariani R. 2004. Nutrisi pada penderita kanker. <http://www.dharmais.co.id/new/content.php?page=article&lang=id&id=4yu> [1 April 2005].
- Hukom RA. 2004. Transfusi komponen darah pada penderita kanker. <http://www.dharmais.co.id/new/content.php?page=article&lang=id&id=8> [1 April 2005].
- Iswantini D, Purwantiningsih, Saripudin D. 2003. Kajian potensi senyawa flavonoid dari Temu putih sebagai antikanker secara enzimatis [laporan penelitian]. Bogor: Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Institut Pertanian Bogor.
- Iswantini D, Latifah K Darusman dan Dany Dardanella, 2004, Uji aktivitas anti kanker dari mengkudu (*Morinda citrifolia*) secara enzimatis dan perbandingannya dengan tanaman obat lain, *Prosiding seminar Nasional XXV Tumbuhan Obat Indonesia*, Karanganyar- Indonesia, 1-7. ISBN. No 979-8486-08-0.
- Iswantini D, Gustini Syabirin, Wiwi Pratiwi. 2008. Daya Inhibisi Ekstrak air dan Etanol Temu Putih (*Curcuma zedoaria*) terhadap Aktivitas Enzim Tirosin Kinase secara In Vitro, *Prosiding Seminar Nasional Sains 2008 FMIPA IPB*, Bogor-Indonesia, 1-16, November 2008. ISBN: 978-979-95093-4-5.
- Lehningher. 1982. *Dasar-Dasar Biokimia*. Terjemahan Maggy Thenawijaya. Jilid 2. Jakarta: Erlangga.
- Lesmono T. 2004. *Karsinogenik, Mutagenik dan Teratogenik*. Bogor: Institut Pertanian Bogor.
- LIPI. 1978. *Tumbuhan Obat*. Bogor: Lembaga Biologi Nasional-LIPI.
- Lu FC. 1995. *Toksikologi Dasar*. Terjemahan Edi Nugroho. Jakarta: Universitas Indonesia Press.
- Malhmann S. 2000. *Signalling by Tyrosin Kinase on Regular and Disrupted Hemetopiesis*. Swiss: Brussel Institute for Immunology.
- Meyer BN, Ferrigni NR, Putnam JE, Jacobsen LB, Nichols DE, Mclaughlin JL. 1982. Brine Shrimp: A convenient general bioassay for active plant constituents. *Planta Med* 45: 31-34.
- Nanduri *et al*, penemu; Dr. Reddy's Research Foundation. 26 November 2002. Anticancer compounds: process for their preparation and pharmaceutical compositions containing them. US Patent 6.486.196.
- Novalina SP. 2003. Penggunaan tanaman obat sebagai upaya alternatif dalam terapi kanker. http://rudycr.topcities.co/ppp702_1034/novalina.htm [17 Desember 2005].
- O'Dwyer ME, Druker BJ. 2000. *The Role of Tyrosine Kinase Inhibitor ST1571 in The Treatment of Cancer*. Portland: Oregon Health Sciences University.
- Rahayu T. 2006. Penentuan dan perbandingan daya inhibisi ekstrak kasar flavonoid sambiloto (*Andrographis paniculata* [Burm.f.] Ness) dan temu putih (*Curcuma zedoaria*) terhadap aktivitas tirosin kinase secara *in vitro* [skripsi]. Bogor: Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Institut Pertanian Bogor.
- Robinson T. 1993. *Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi*. Ed Ke-6. Terjemahan Kosasih Padmawinata. Bandung: Penerbit Institut Teknologi Bandung.
- Simadibrata M. 2004. Diare dan konstipasi akibat kemoterapi. <http://www.Dharmais.co.id/new/content.php?page=article&lang=id&id=8yu> [1. April 2005].
- Siswandono, Soekardjo. 1995. *Kimia Medicinal*. Surabaya: Airlangga University Press

ekstrak ini digunakan untuk penentuan nilai LC₅₀ dan pengujian daya inhibisi terhadap tirosin kinase.

2.1.1.3. Ekstraksi Etanol

Serbuk sambiloto kering dimaserasi dengan pelarut etanol 70% (1:4) selama dua hari, lalu disaring dan dipekatkan dengan rotari evaporator pada suhu di bawah 50 °C sampai diperoleh residu kering. Hasil ekstrak ini selanjutnya digunakan untuk penentuan nilai LC₅₀ dan pengujian daya inhibisi terhadap tirosin kinase.

Setiap ekstrak yang diperoleh, rendemennya dihitung dengan rumus, sebagai berikut:

$$\text{rendemen} = \frac{\text{Bobot Ekstrak (g)}}{(1 - \text{kadar Air}) \times \text{Bobot Sampel (g)}} \times 100\%$$

2.1.3. Uji Fitokimia (Metode Harborne 1996)

Uji fitokimia yang akan dilakukan meliputi uji flavonoid, alkaloid, terpenoid dan steroid, saponin, kuinon serta uji tanin.

Uji Flavonoid. Filtrat sebanyak 5 mL ditambahkan serbuk magnesium (0,5 gram), 1 mL alkohol klorhidrat (campuran asam klorida 37% dan etanol 95% dengan volume sama), dan amil alkohol, kemudian dikocok kuat-kuat. Terbentuknya warna merah, kuning, dan jingga pada lapisan amil alkohol menunjukkan adanya golongan flavonoid.

Ekstrak sebanyak 1 mL ditambah dengan 1 mL metanol 95%, 0,5 Zn, dan 2 tetes HCl 2 N, didiamkan selama 2 menit, lalu ditambah 1 mL HCl 37%. Uji ini akan positif untuk glikosida flavonoid bila dalam 2–5 menit terbentuk warna merah intensif.

Uji Alkaloid. Ekstrak sebanyak 1 gram dilarutkan dengan kloroform dan beberapa tetes NH₄OH, kemudian disaring ke dalam tabung reaksi tertutup. Ekstrak kloroform dalam tabung reaksi dikocok dengan 10 tetes H₂SO₄ 2 M, lalu lapisan asamnya dipisahkan ke dalam tabung reaksi lain. Lapisan asam ini diteteskan pada lempeng tetes dan ditambahkan pereaksi Dragendorf, Mayer, dan Wagner yang akan menimbulkan endapan dengan warna berturut-turut merah jingga, putih, dan coklat.

Uji Terpenoid dan Steroid. Ekstrak sebanyak 2 gram tanaman dilarutkan dengan 35 mL etanol panas (50 °C), kemudian disaring ke dalam piringan porselin dan diuapkan sampai kering. Residu ditambahkan eter dan ekstrak eter dipindahkan ke dalam lempeng tetes, lalu ditambahkan 3 tetes anhidrida asetat dan 1 tetes H₂SO₄ pekat (pereaksi Lieberman-Burchard). Warna merah atau ungu menunjukkan adanya terpenoid dan warna hijau atau biru menunjukkan adanya steroid.

Uji Saponin. Ekstrak sebanyak 1 gram tanaman dimasukkan ke dalam gelas piala dan ditambahkan 100 mL air panas, lalu dididihkan selama 5 menit. Setelah itu, ekstrak

daripada kontrol positif (genistein). Hal ini sangat berguna sebagai bukti ilmiah pada kajian potensi dari beberapa tanaman yang berpotensi sebagai antikanker.

4. KESIMPULAN

Daun dan batang sambiloto mengandung senyawa golongan alkaloid, flavonoid, terpenoid, steroid, dan tanin. Ekstrak akuadem dan air dapat mengekstraksi senyawa alkaloid, flavonoid, tanin, dan terpenoid, sedangkan ekstrak etanol hanya dapat mengekstraksi terpenoid dan alkaloid saja. Diduga senyawa flavonoid, alkaloid, tanin, dan terpenoid pada sambiloto adalah senyawa yang mempunyai daya inhibisi pada tirosin kinase.

Data hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak kasar dari sambiloto memiliki kandungan bioaktif dan berpotensi menghambat aktivitas kerja tirosin kinase. Ketiga ekstrak (akuadem, air kran, dan etanol) tanaman memiliki daya hambat lebih tinggi dibandingkan dengan genistein (kontrol positif). Terbukti dengan konsentrasi yang sama (300 ppm), ekstrak air kran menghasilkan penghambatan sebesar 64,52%, ekstrak etanol sebesar 67,05%, dan ekstrak akuadem menghasilkan daya hambat terbesar, yaitu bernilai 70,12%.

DAFTAR PUSTAKA

- Akiyama *et al.* 1987. Genistein, a specific inhibitor of tyrosine-specific protein kinases. *J Biol Chem* 262:5592-5.
- Alexandrova R, Varadinova T, Velcheva M, Genova P, Salnova I. 2000. Cytotoxic effect of isoquinoline alkaloid on tumor cell lines. *Experimental Pathology and Parasitology* 4:8-14.
- Challem J, Toecus VD, Knittel L. 2002. *The Soy Sensation*. New York: McGraw-Hill.
- Daintith J. 1990. *Kamus Lengkap Kimia*. Achmadi SS, penerjemah; Marias, Sitohang DP. editor. Jakarta: Erlangga. Terjemahan dari: *Concise Science Dictionary*.
- Dalimartha S. 1999. *Atlas Tumbuhan Obat Indonesia*. Jilid I. Jakarta: Trubus Agriwidya. Anggota IKAPI.
- Dardanella D. 2005. Penapisan beberapa tanaman asli Indonesia yang berpotensi sebagai antikanker secara enzimatik [skripsi]. Bogor: Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Institut Pertanian Bogor.
- Dixon RA, Ferreira D. 2002. Molecules of interest. *Phytochemistry* 60:205-211.
- Ganiswara S *et al.* 1995. *Farmakologi dan Terapi*. Ed ke-4. Jakarta: Universitas Indonesia. hlm 686-689.
- Harborne JB. 1996. *Metode Fitokimia: Cara Menganalisis Tanaman*. Terjemahan K. Padmawinata dan I Sudiro. Bandung: Institut Teknologi Bandung.

disaring dan filtrat digunakan untuk pengujian. Uji saponin dilakukan dengan pengocokan 10 mL filtrat dalam tabung reaksi tertutup selama 10 menit. Adanya saponin ditunjukkan dengan terbentuknya buih stabil.

Uji Kuinon. Ekstrak sebanyak 1 gram tanaman ditambahkan 100 mL air panas, dididihkan selama 5 menit dan disaring. Ke dalam 10 mL filtrat ditambahkan beberapa tetes NH_4OH 1 N. warna merah yang terbentuk menunjukkan adanya kuinon.

Uji Tanin. Ekstrak sebanyak 1 gram tanaman ditambahkan 100 mL air panas, dididihkan selama 5 menit dan disaring. Sebagian filtrat ditambahkan larutan besi(III) klorida. Warna hitam kehijauan yang terbentuk menunjukkan adanya tanin.

2.2. Uji toksisitas ekstrak dengan menggunakan nilai LC_{50}

Telur udang diteteskan ke dalam gelas piala berisi 200 mL air laut. Setelah 2 hari, telur udang akan menetas menjadi larva udang. Ekstrak kasar dilarutkan dalam air laut dengan konsentrasi 10, 100, 500, dan 1000 ppm. Sebanyak 10 ekor larva udang ditempatkan dalam larutan yang berisi ekstrak. Pengamatan dilakukan setelah 24 jam dengan menghitung jumlah larva yang mati dari total larva yang dimasukkan ke dalam botol vial. Data analisis menggunakan program analisis Probit dengan derajat kepercayaan 95% untuk mendapatkan LC_{50} . Kontrol dilakukan dengan air laut tanpa penambahan ekstrak.

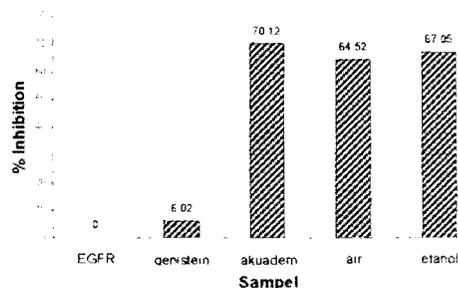
2.3. Penentuan daya inhibisi ekstrak terhadap aktivitas tirosin kinase.

2.3.1. Pelapisan 96-wells *Microtiter Plate*

Pelapisan dilakukan dengan cara-cara berikut. Plastik penutup dilepaskan dari tempatnya, kemudian jumlah sumur yang diperlukan ditempatkan dalam *plate holder*. Sampel larutan stok substrat PTK (PGT, Polimer sintetik acak Poli-Glu-Tyr) dicairkan dan sebanyak 125 μL substrat tersebut ditambahkan masing-masing sumur, lalu mikrotiter ditutup. Kemudian *plate* diinkubasi sepanjang malam pada suhu 37 °C. Setelah itu, larutan PTK substrat yang tidak terlapisi dibuang dan masing-masing sumur dicuci dengan 200 μL bufer pencuci (PBS-Tween 20), kemudian bufer pencuci dibuang dan sumur dikeringkan selama 2 jam dengan suhu 37 °C.

2.3.2. Pengujian Protein Tirosin Kinase

Pelarut bufer tirosin kinase (BTK) dengan konsentrasi 1x dibuat dengan cara. BTK konsentrasi 10x sebanyak 1 mL dilarutkan dengan 9 mL air deionisasi. Selanjutnya, 32,5 μL EGFR (130U) dicairkan, kemudian ditambah 292,5 μL BTK (1x) (setiap 10 μL mengandung 4 U), campuran diaduk dan disimpan dalam es. Larutan stok ATP sebanyak 128 μL dilarutkan dengan 3,2 mL BTK (1x), diaduk perlahan dan disimpan dalam es.



Gambar 2. Persen inhibisi aktivitas tirosin kinase oleh masing-masing ekstrak tanaman.

Uji fitokimia menunjukkan kandungan senyawa metabolit sekunder yang terdapat pada ekstrak air kran dan ekstrak akuadem tidak berbeda jauh baik dalam hal jenis ataupun jumlahnya (Tabel 3). Namun, daya inhibisi ekstrak air kran terhadap aktivitas tirosin kinase lebih rendah dibandingkan dengan akuadem, diduga kandungan mineral yang terdapat di dalamnya berfungsi sebagai nutrisi bagi tirosin kinase itu sendiri atau mineralnya menghambat bioaktivitas senyawa metabolit pada ekstrak (efek antagonis).

Hasil pengujian semua ekstrak menunjukkan nilai LC_{50} ekstrak etanol > ekstrak air kran > ekstrak akuadem, sedangkan daya inhibisi ekstrak akuadem > ekstrak etanol > ekstrak air kran. Data di atas menunjukkan bahwa ekstrak akuadem berpotensi sebagai antikanker karena nilai toksisitasnya rendah tetapi menghasilkan daya inhibisi yang paling tinggi terhadap tirosin kinase.

Keberadaan dari beberapa senyawa metabolit sekunder seperti flavonoid, alkaloid, tanin, dan terpenoid pada ekstrak kasar yang diujikan, diduga memiliki peran tersendiri dalam menghasilkan nilai daya hambat pada aktivitas tirosin kinase.

Metabolit sekunder flavonoid sudah banyak diketahui sebagai inhibitor spesifik dari tirosin kinase. Berdasarkan uji fitokimia, kandungan flavonoid pada ekstrak akuadem dan air kran lebih besar daripada kandungan senyawa metabolit sekunder lain. Maka, diduga senyawa flavonoid memiliki peran yang cukup besar dalam aktivitasnya menghambat tirosin kinase. Dalam penelitian sebelumnya ditunjukkan bahwa daya hambat ekstrak kasar flavonoid pada tanaman sambiloto lebih tinggi daripada genistein terhadap aktivitas tirosin kinase pada konsentrasi yang sama (300 ppm) sebesar 67,19% (Rahayu 2005). Senyawa flavonoid dari temu putih juga telah ditunjukkan berpotensi sebagai antikanker dengan penghambatannya terhadap tirosin kinase mencapai 93,4% (Iswantini et al. 2003). Sejalan dengan itu, lebih rendahnya daya inhibisi ekstrak etanol dibandingkan dengan ekstrak akuadem disebabkan oleh tidak terekstraknya flavonoid oleh etanol.

Semua ekstrak yang dihasilkan menunjukkan sifat inhibitor yang baik terhadap aktivitas tirosin kinase. Bahkan sebagian besar memiliki daya hambat yang lebih besar

Setelah itu, vial sebanyak 5 disiapkan, 1 vial untuk kontrol EGFR, 1 vial untuk genistein dan 3 vial untuk masing-masing sampel. EGFR sebanyak 20 μL dimasukkan ke dalam setiap vial, kemudian ditambahkan 20 μL sampel 300 ppm, 20 μL genistein 300 ppm (sebagai pembanding), dan 20 μL air bebas ion sebagai kontrol.

BTK sebanyak 90 μL (1x) yang mengandung ATP dimasukkan ke dalam masing-masing sumur. Setelah itu, ditambahkan 20 μL larutan sampel yang berisi EGFR ke dalam setiap sumur (duplo). Sehingga tiap sumur mengandung 10 μL sampel 300 ppm dan 10 μL EGFR 4U dengan konsentrasi ATP 0,3 mM. Selanjutnya, sumur-sumur ditutup dan diinkubasi pada temperatur kamar selama 30 menit. Campuran dikeluarkan dari masing-masing sumur, dan sumur dicuci dengan 200 μL buffer pencuci dengan lima kali pengulangan.

Larutan antibodi konjugat (HRP, Hoerse Radish Peroxidase) sebanyak 100 μL dengan pelarutan yang tepat dimasukkan ke dalam sumur. Sumur ditutup dan diinkubasi kembali selama 30 menit pada temperatur ruangan.. Setelah itu, larutan antibodi dikeluarkan dari sumur, kemudian masing-masing sumur dicuci dengan 200 μL bufer pencuci, pencucian dilakukan lima kali. Substrat OPD sebanyak 100 μL segar ditambahkan pada masing-masing sumur dan diinkubasi selama tujuh menit dalam keadaan gelap pada suhu ruangan. Larutan substrat peroksidase segar dibuat dengan cara pelarutan satu tablet OPD (*o*-Phenylenediamine) dan satu tablet urea hidrogen peroksida dalam 20 mL air deionisasi, dicampurkan sampai larut, dan dihindarkan dari cahaya sampai digunakan, larutan ini tidak untuk disimpan.

Warna oranye kuning akan muncul dalam sumur yang positif. Reaksi dihentikan dengan penambahan 100 μL H_2SO_4 2,5 N sebagai larutan penghenti pada masing-masing sumur. Sumur diukur absorbansnya dengan mikroplate ELISA yang ditetapkan pada 490 nm. Pengukuran harus dalam waktu 30 menit dari penambahan larutan penghenti.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

3.1. Kadar Air

Sampel sambiloto yang digunakan pada penelitian ini adalah campuran batang dan daun. Kedua bagian ini, ditentukan kadar airnya. Pengeringan dilakukan pada suhu 40 $^{\circ}\text{C}$, untuk mencegah terjadinya kerusakan pada senyawa kimia tertentu.

Kandungan air dalam suatu bahan mempengaruhi daya tahannya terhadap serangan mikrob, sehingga dapat diperkirakan cara penanganan terbaik bagi sampel dalam hal tempat dan waktu penyimpanan. Bila kandungan air yang terkandung dalam suatu bahan berkisar antara 3% dan 7%, maka kestabilan optimum bahan akan tercapai

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60
61
62
63
64
65
66
67
68
69
70
71
72
73
74
75
76
77
78
79
80
81
82
83
84
85
86
87
88
89
90
91
92
93
94
95
96
97
98
99
100

dan pertumbuhan mikrob dapat dikurangi sehingga dapat memperpanjang masa simpan tanaman kering (Winarno 1997). Penentuan kadar air pada sampel kering tanaman juga berfungsi sebagai faktor koreksi terhadap hasil rendemen ekstrak kasar yang diperoleh, karena ekstrak etanol akhir yang didapat berupa pasta kental.

Kadar air yang diperoleh dari daun dan batang segar berturut-turut sebesar 78,34% dan 59,64%, sedangkan kadar air untuk serbuk daun dan batang kering masing-masing sebesar 11,04% dan 9,24%. Kadar air yang dihasilkan ternyata lebih dari kisaran 3–7% (Winarno 1997). Oleh sebab itu, sebaiknya sampel harus langsung digunakan agar tidak terjadi penyimpangan, atau dapat dikeringkan kembali untuk menghindari aktivitas mikrob.

3.2. Ekstraksi

Ekstraksi yang dilakukan menggunakan metode maserasi, hal ini dimaksudkan untuk mencegah rusaknya senyawa metabolit sekunder yang tidak tahan terhadap suhu tinggi. Pelarut yang digunakan dalam ekstraksi daun dan batang sambiloto adalah air kran, akuadem, dan etanol 70%, dengan nisbah 1:4.

Air kran digunakan pada penelitian ini karena umumnya masyarakat menggunakan air kran sebagai pelarut dalam meyeduh atau merebus obat. Penggunaan akuadem (bebas mineral) bertujuan untuk melihat dan membandingkan apakah mineral yang ada dalam air kran mempengaruhi daya inhibisi terhadap tirosin kinase. Pelarut etanol digunakan karena etanol memiliki dua gugus yang berbeda kepolarannya, yaitu gugus hidroksil yang bersifat polar dan gugus alkil yang bersifat nonpolar. Dengan adanya kedua gugus ini diharapkan senyawa-senyawa dengan tingkat kepolaran yang berbeda akan terekstrak ke dalam etanol. Selain itu, produksi skala industri biasanya menggunakan pelarut etanol.

Hasil rendemen dari proses ekstraksi tiap pelarut dapat dilihat pada Tabel 1.

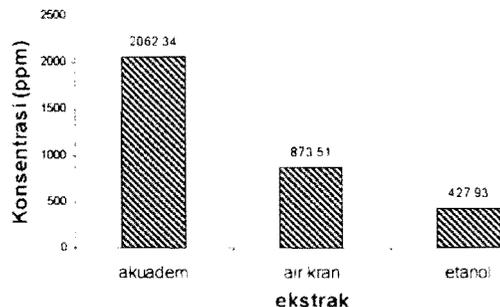
Tabel 1 Rendemen batang dan daun sambiloto setelah ekstraksi

Ekstrak	Rendemen (%b/b)
Air kran	22,36
Akuadem	14,89
Etanol	16,07

3.3. Uji Fitokimia

Uji fitokimia dilakukan pada sampel basah, serbuk kering daun dan batang sambiloto, dan ekstrak kasar yang diperoleh digunakan untuk mengetahui jenis senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam setiap bahan. Uji yang dilakukan meliputi uji alkaloid, steroid, terpenoid, flavonoid, saponin, kuinon, dan tanin.

Kandungan senyawa metabolit sekunder pada daun dan batang berdasarkan uji ini hampir sama secara kualitatif. Tabel 2 menunjukkan bahwa daun segar dan kering



Gambar 2. Nilai LC₅₀ pada tiap ekstrak tanaman terhadap larva *A. salina*.

3.5. Daya Hambat Ekstrak terhadap Tirosin Kinase

Seluruh ekstrak kasar tanaman yang diperoleh diuji aktivitas tirosin kinase secara *in vitro* menggunakan metode ELISA (*Enzym Linked Immunosorbant Assay*). Konsentrasi yang digunakan pada pengujian terhadap tirosin kinase secara *in vitro* adalah konsentrasi yang berada di bawah nilai LC₅₀ dari masing-masing ekstrak. Mengingat dalam formulasi obat akan lebih aman jika dibuat konsentrasi di bawah LC₅₀. Maka LC₅₀ masing-masing ekstrak ini akan menjadi batas penentuan konsentrasi pada uji selanjutnya. Hal ini dilakukan untuk mengetahui daya hambat aktivitas enzim pada keadaan yang tidak toksik, sehingga dapat diketahui tingkat kekuatan ekstrak, pada kondisi yang paling aman bagi tubuh. Konsentrasi LC₅₀ dari ekstrak etanol, ekstrak akuadem dan ekstrak air kran berturut-turut sebesar 427,93; 2.062,34; 873,51 ppm, sehingga konsentrasi yang dipilih untuk uji inhibisi ialah 300 ppm.

Pengujian dilakukan dengan kontrol negatif (tanpa penambahan ekstrak) dan kontrol positif (mengandung genistein pada konsentrasi 300 ppm). Hasil yang diperoleh berupa absorbans dari aktivitas tirosin kinase. Semakin rendah nilai absorbans yang dihasilkan menunjukkan semakin besar daya hambatnya terhadap aktivitas tirosin kinase.

Gambar 2 menunjukkan daya inhibisi dari ekstrak akuadem, ekstrak air kran, dan ekstrak etanol, masing-masing sebesar 70,12%, 64,52%, dan 67,05%. Ekstrak akuadem menghasilkan daya inhibisi paling besar dibandingkan dengan genistein (kontrol positif) dan ekstrak lainnya. Hal ini diduga bahwa senyawa-senyawa metabolit sekunder yang terekstraksi pada pelarut akuadem lebih dapat menghambat aktivitas tirosin kinase. Kemungkinan senyawa-senyawa tersebut terikat dengan sisi aktif enzim secara lebih dominan dibandingkan dengan senyawa pada ekstrak lain.

mengandung flavonoid, alkaloid, terpenoid, steroid, banyak tanin, dan sedikit saponin. Namun, setelah pengeringan kandungan saponin menjadi hilang. Uji fitokimia juga dilakukan pada batang segar dan kering, hasilnya ditunjukkan pada Tabel 2. Senyawa metabolit sekunder yang dihasilkan, yaitu flavonoid, alkaloid, tanin, dan steroid, sedangkan terpenoid hanya terdapat pada batang segar.

Tabel 2 Hasil uji fitokimia daun segar dan kering serta batang segar dan kering

Sampel	Flavonoid		Alkaloid	Tanin	Saponin	Kuinin	Terpenoid	Steroid
	Agl	Glk						
Daun segar	+	+	+	+++	+	-	+	+
Daun kering	+	+	+	+++	-	-	+	+
Batang segar	++	+	+	++	-	-	+	+
Batang kering	++	+	+	+	-	-	-	+

Keterangan: tanda (+) menunjukkan tingkat intensitas warna

Agl : Aglikon

Glk : Glikosida

Perbedaan ini dapat disebabkan oleh perbedaan cara analisis serta perbedaan asal tanaman. Pada analisis kuantitatif akan menghasilkan nilai yang lebih sensitif daripada analisis kualitatif yang hanya mengandalkan visualisasi sehingga terlihat dengan jelas senyawa terpenoid pada saat analisis fitokimia dilakukan. Hal lain yang dapat mempengaruhi kandungan senyawa dalam tanaman adalah tempat tumbuh tanaman yang dipengaruhi oleh jenis tanah, curah hujan, iklim, intensitas sinar matahari, ketinggian, dan lingkungan di sekitar tempat tumbuhnya. Selain itu, dipengaruhi juga oleh umur tanaman, sehingga kandungan dan komposisinya dapat berbeda-beda. Kandungan terpenoid akan berkurang hingga 0,5% pada sambiloto yang sudah berbunga (LIPI 1978).

Tabel 3 menunjukkan hampir semua senyawa metabolit sekunder yang memiliki kepolaran yang tinggi terdistribusi pada pelarut air, baik air kran maupun akuadem. Ekstrak akuadem mengandung senyawa metabolit yang lebih banyak dibandingkan dengan air kran. Hal ini membuktikan bahwa ion, mineral atau pengotor-pengotor yang terdapat pada air kran mempengaruhi aktivitas dari senyawa metabolit sekunder. Pelarut etanol bersifat semipolar sehingga diduga mampu mengekstraksi senyawa polar dan nonpolar lebih banyak. Ternyata pada penelitian ini hanya dapat mengekstraksi alkaloid dan terpenoid saja.

Beberapa senyawa flavonoid mudah larut dalam air, terutama bentuk glikosidanya dan senyawa yang hanya sedikit larut di air karena tingkat kepolarannya bisa diekstraksi

dengan pelarut organik seperti etanol. Menurut LIPI (1978) beberapa senyawa flavonoid yang terdapat dalam sambiloto termasuk ke dalam jenis glikosida flavonoid yang mungkin hanya bisa terekstraksi oleh pelarut yang bersifat polar seperti air. Kemungkinan karena hal inilah yang menyebabkan flavonoid tidak terekstraksi oleh etanol 70%.

Tabel 3 Hasil uji fitokimia ekstrak akuadem, air panas dan etanol daun dan batang sambiloto

Senyawa	dH ₂ O	H ₂ O	EtOH
Alkaloid			
Mayer	+	+	+
Dragendorf	++	+	+
Wagner	++	++	+
Steroid	-	-	-
Terpenoid	+	+	-
Flavonoid			
Aglikon	+++	++	-
Glikosida	+++	++	-
Saponin	-	-	-
Kuinon	-	-	-
Tanin	++	++	-

Keterangan:

dH₂O : akuadem

H₂O : air kran

EtOH : etanol

Tanda (+) menunjukkan tingkat intensitas warna

3.4. Uji Toksisitas Larva Udang

Nilai LC₅₀ yang dihasilkan dari uji BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*) diketahui mampu secara umum memberikan indikasi adanya senyawa toksik yang terkandung dalam suatu bahan alam. Uji toksisitas larva udang tidak spesifik untuk antitumor. Akan tetapi kemampuannya untuk mendeteksi 14 dari 24 ekstrak *Euphorbiaceae* yang aktif terhadap uji 9PS dan mendeteksi 2 dari 6 spesies yang aktif terhadap uji 9KB memungkinkan uji toksisitas larva udang dapat digunakan sebagai uji penapisan awal senyawa (Meyer *et al.* 1982).

Gambar 1 menunjukkan bahwa ekstrak etanol dan air kran memiliki potensi bioaktif terhadap uji kematian larva udang. Hal ini ditunjukkan oleh uji toksisitas yang menghasilkan LC₅₀ kurang dari 1000 ppm. LC₅₀ yang didapatkan pada ekstrak etanol dan ekstrak air kran berturut-turut sebesar 427,93 ppm dan 873,51 ppm, sedangkan nilai LC₅₀ ekstrak akuadem sebesar 2.062,34 ppm. Hal ini diduga karena ekstrak etanol mempunyai senyawa metabolit sekunder yang lebih aktif dan toksik, sedangkan pada ekstrak akuadem mungkin ada beberapa senyawa metabolit sekunder yang menghambat senyawa metabolit sekunder lain yang aktif.