

ARTIKEL ILMIAH

**KAJIAN ANTIPROLIFERATIF EKSTRAK DAUN BENALU
DUKU (*Loranthaceae dendrophthoe species*) TERHADAP SEL
MIELOMA SECARA *IN VITRO***



Oleh

**NELLA ROSSARIA
NIM 060433267**

**FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2007**

**KAJIAN ANTIPROLIFERATIF EKSTRAK DAUN BENALU
(*Loranthaceae dendrophthoe species*) TERHADAP SEL MIELOMA SECARA
IN VITRO**

**THE ANTIPROLIFERATIVE STUDY OF BENALU DUKU
(*Loranthaceae dendrophthoe species*) LEAVES EXTRACT ON MYELOMA
CELL IN VITRO**

Nella Rossaria

Mahasiswa, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Airlangga, Surabaya

ABSTRACT

This observation was aimed to find out potency of benalu duku extract in vitro. The antiproliferative activity is an ability to interfere with the myeloma cell to divide. The antiproliferative ability of benalu duku extract is measured by number of the death and the live cell both in treatment or control groups. Three groups of treatment and three groups of control keep for 24 hours in an incubator on 37 °C. The data analyzed using SPSS 12,0 version for windows with T test. The concentration of benalu duku extract used each is 10 ppm, 20 ppm, and 30 ppm. The ability of benalu duku leaves extract to inhibit the progress of myeloma cell was started on 10 ppm level. Data analyzed using T test showed that between each treatment and the control was significantly different. The result showed that the benalu duku leaves extract which is extracted by using hydrochloride acid has ability antiproliferative on myeloma cell culture.

Key words : in vitro, antiproliferative, benalu duku extract, myeloma cell

Pendahuluan

Saat ini kanker merupakan salah satu penyebab kematian yang paling sering terjadi dan kasus penderita senantiasa bertambah (Mutschler, 1991). Obat-obatan yang digunakan biasanya berupa obat kimia yang bekerja dengan system *cycle dependent drug* yang membunuh kanker secara selektif pada fase-fase pertumbuhannya seperti tahap mitosis atau pada sintesis DNA (Robin dan Kumar, 1997). Kebanyakan obat-obat kemoterapi mempunyai efek samping dan komplikasi berupa kerusakan-kerusakan pada jaringan yang masih sehat, oleh

karena itu mulai banyak dilakukan penelitian tentang bahan obat dari alam yang dapat berfungsi sebagai antikanker (Wahyuningsih dan Yustina, 1999).

Benalu duku (*Loranthaceae dendrophthoe species*) adalah tumbuhan parasitik yang termasuk dalam 3000 spesies tumbuhan lain yang memiliki potensi sebagai tanaman obat (*herba medicina*). Bagian dari tumbuhan benalu yang berkhasiat sebagai *herba medicina* adalah bagian daun benalu (Djoko, 1997) seperti benalu teh dan benalu mangga. Benalu duku ternyata memiliki fenomena yang mirip dengan benalu teh (Indrawati, 1999). Potensi tersebut apabila digali akan menghasilkan manfaat besar, sehingga mampu mengurangi biaya pengobatan sekaligus mengembangkan potensi untuk meningkatkan devisa negara.

Beberapa peneliti sejak tahun 1998 telah merintis khasiat benalu sebagai antikanker. Dalam studi laboratorium diketahui secara *in vitro* dan *in vivo* kandungan bahan yang terdapat dalam benalu duku mampu menghambat sel kanker (Farida *et al.*, 2000; Indrawati, 1999).

Bahan aktif sediaan galenika untuk keperluan pengobatan dapat ditarik dengan menggunakan pelarut organik salah satunya adalah asam kuat seperti asam hidroklorida dan asam sulfat. Penggunaan asam hidroklorida, dapat digunakan untuk menghancurkan substansi keras yang terdapat pada tanaman obat khususnya daun benalu duku.

Materi dan Metode Penelitian

Bahan Penelitian

a. Benalu Duku

Benalu Duku (*Loranthaceae dendrophthoe species*), berupa daun, usia tumbuhan sekitar tiga tahun, tumbuh menempel pada dahan pohon duku, benalu tersebut didapatkan di daerah Muara Enim, Sumatra Selatan.

b. Sel Mieloma

Sel kultur yang digunakan adalah tipe P3 UI berasal dari mencit galur Balb/c, sel tersebut turunan dari MOPC clone ke 21 namun telah mengalami *cell line*. Sel tersebut diperoleh dari Laboratorium Produksi Vaksin Zoonosis, Pusat Veterinaria Farma, Direktorat Jendral Peternakan, Departemen Pertanian. Jl. A. Yani, Surabaya.

c. Bahan Kimia

Media bubuk kultur RPMI 1640 mengandung HEPES dari Sigma Cherm., *corp.*, Larutan pro injeksi NaCl, FBS, Mycoctatin dari Pfizer *corp.*, dan Kanamicine dari PT Meiji *corp.*, Asam hidroklorida dari merck chem., *corp.* Nitrogen gas tingkat UHP, *Metylen blue*.

d. Peralatan Penelitian

Filter steril 0,20 μm , mikroplate 16 sumuran dari Sterilin *corp.*, *Mikroskope inverted* Olympus CK2, CO2 inkubator, *Laminar Flow* dilengkapi lampu UV, siring mikro Hamilton 1-10 μl , *adjusted micropipete* 200 μl (Socorex). Peralatan gelas seperti labu ukur 10 ml, 25 ml, 50 ml, 100 ml, gelas ukur erlen meyer, gelas beker, corong Buchner, haemositometer Thoma. Timbangan analitik maksimum hingga 1 g dan timbangan kasar hingga 100 kg, *vortex genie*.

Metode Penelitian

a. Pembuatan Ekstrak

Pengerjaan penelitian diawali dengan membersihkan daun Benalu Duku dari debu dan kotoran, selanjutnya di angin-anginkan dengan cara dibolak-balik dan dikeringkan, selanjutnya dihaluskan menjadi serbuk halus serta dilakukan pengayakan.

Simplisia serbuk kering selanjutnya ditimbang 100 g dan dimaserasi menggunakan asam hidroklorida (6 N) 200 ml, kemudian dibiarkan selama 24 jam sambil sesekali diaduk-aduk. Dilanjutkan dengan penyaringan menggunakan corong Buchner untuk mendapatkan filtrat. Residu hasil maserasi dilakukan pengulangan maserasi sebanyak empat kali seperti uraian diatas dengan terlebih dahulu menambahkan asam hidroklorida 200 ml dan diakhiri filtrasi untuk mendapatkan filtrat. Filtrat yang diperoleh ditampung dan dilakukan pengeringan menggunakan uap Nitrogen pada penangas air suhu 40 °C hingga diperoleh ekstrak kering dengan warna hijau kehitam-hitaman.

b. Pembuatan Larutan Baku Kerja

Ekstrak kering yang diperoleh ditimbang 10 mg dan dilarutkan dalam NaCl 100 ml (100 ppm). Larutan tersebut dilakukan penipisan hingga didapatkan ekstrak daun benalu duku masing-masing 10 ppm, 20 ppm, 30 ppm.

c. Pemberian Perlakuan

Sel mieloma yang telah dipersiapkan dalam media 2 ml pada 16 sumuran mikroplat sebanyak dua mikroplat, selanjutnya dilakukan penghitungan jumlah sel pada tiap sumuran mikroplat. Bila telah memenuhi persyaratan jumlah sel, dilakukan penambahan ekstrak daun benalu (setiap kadar ekstrak daun benalu

duku diwakili tiga sumuran mikroplat). Dengan demikian, akan didapat sembilan sumuran uji terdiri dari 10 ppm tiga sumuran, 20 ppm tiga sumuran, 30 ppm tiga sumuran. Khusus kontrol disediakan pula sembilan sumuran dengan penambahan 100 µl NaCl setiap sumuran.

Pasca penambahan ekstrak daun benalu duku dilakukan inkubasi dan akan dilakukan pengamatan 24 jam kemudian. Pengamatan diawali dengan melakukan perontokan sel menggunakan sendok pengaduk mikro steril dan segera dilakukan penghisapan menggunakan siring Hamilton 5 µl. Hasil pengambilan media sel ditambahkan (1:1) *Metylen blue* dan dimasukkan dalam haemositometer Thoma.

d. Rancangan Penelitian dan Analisis Data

Rancangan pengerjaan penelitian adalah pasca perlakuan dengan grup kontrol, dengan perolehan hasil penelitian berupa kadar kemampuan hambat pertumbuhan sel sebagai data primer.

Analisis data dilakukan dengan menggunakan program komputer SPSS versi 12,0 *for windows*. Data yang diperoleh selanjutnya dilakukan penghitungan menggunakan uji T signifikansi 0,05.

Hasil dan Pembahasan

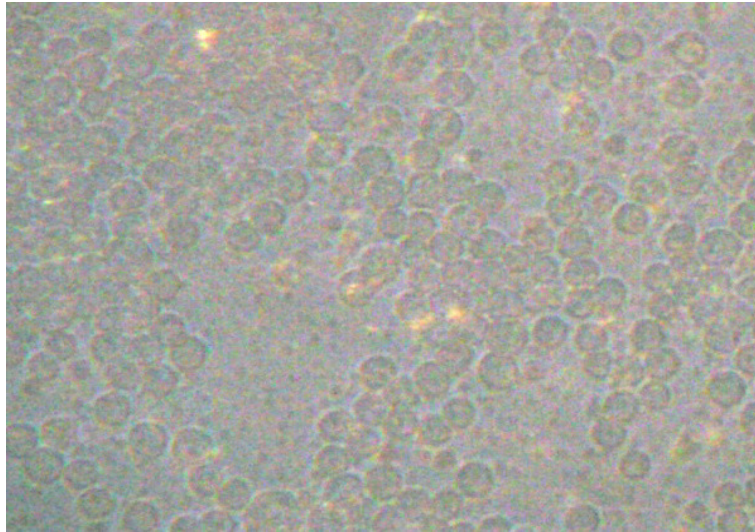
Kajian kemampuan hambat sel mieloma ekstrak daun benalu duku menunjukkan hasil seperti tampak pada Tabel. Dalam Tabel tampak.

Tabel. Analisis daya hambat ekstrak daun benalu duku terhadap sel mieloma.

Jumlah sel mieloma (/2 ml) pengamatan 24 jam pasca perlakuan				
Perlakuan	Ekstrak Daun Benalu Buku	Kontrol	(X±SD)	
			Ekstrak Daun Benalu Duku	Kontrol
10 ppm	1,20.10 ⁵	1,83.10 ⁵	114,166±194,186 ^a	189,000±79,3725 ^b
	9,25.10 ⁴	1,98.10 ⁵		
	1,30.10 ⁵	1,86.10 ⁵		
20 ppm	0,87.10 ⁵	2,10.10 ⁵	88,166±16,072 ^c	220,000±100,000 ^b
	8,75.10 ⁴	2,20.10 ⁵		
	9,00.10 ⁴	2,30.10 ⁵		
30 ppm	7,77.10 ⁴	2,60.10 ⁵	74,333±58,332 ^d	236,666±120,185 ^b
	6,75.10 ⁴	2,30.10 ⁵		
	7,75.10 ⁴	2,20.10 ⁵		

Keterangan : Superskrip yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan nyata ($p < 0,05$)

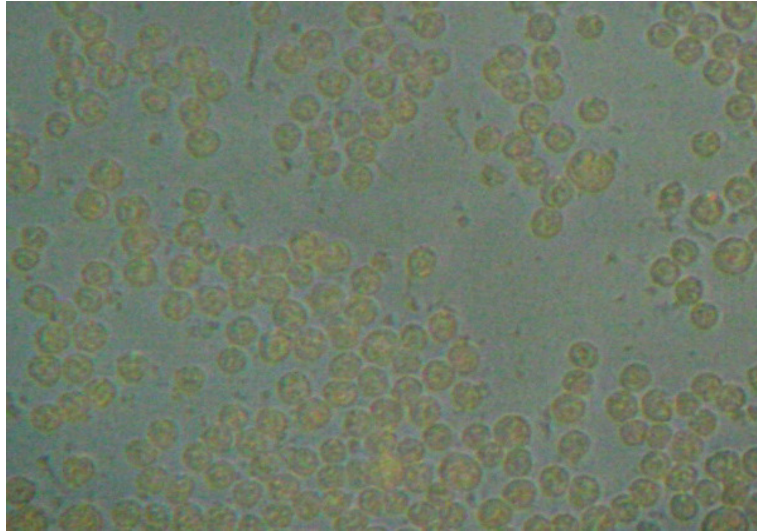
Hasil analisis daya hambat ekstrak daun benalu duku terjadi mulai pada kadar 10 ppm seperti paparan pada tabel , hal tersebut menunjukkan bahwa jumlah sel tersebut berada pada kriteria penghambatan sel, sebagai ilustrasi tampak pada gambar 1. Pada gambar tampak kerapatan sel mieloma mulai berkurang bila dibandingkan dengan sel kontrol (gambar 4.).



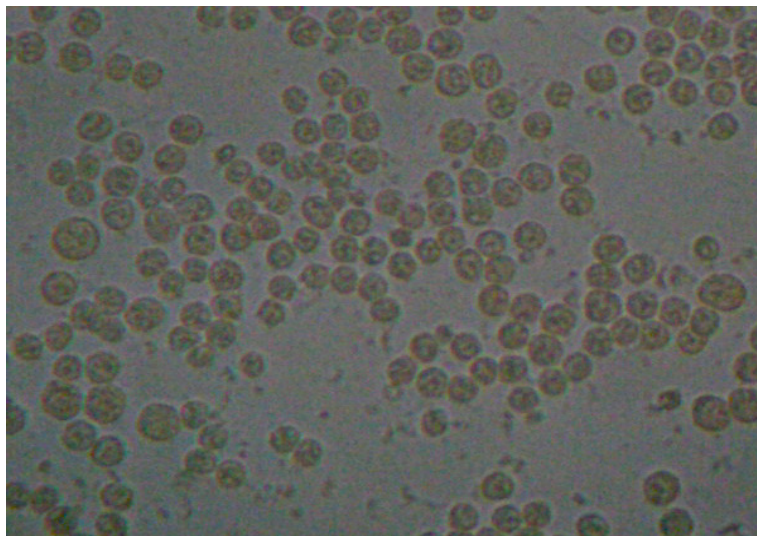
Gambar 1. Sel perlakuan pasca pemberian 10 ppm ekstrak daun benalu duku (200x).

Untuk mengetahui adanya perbedaan yang bermakna antara masing-masing konsentrasi ekstrak daun benalu duku dilakukan analisis dengan menggunakan uji T. Dari tabel diketahui kemampuan hambat ekstrak daun benalu pada konsentrasi 10 ppm berbeda nyata dengan konsentrasi 20 ppm dan 30 ppm. Hal tersebut juga dapat dilihat pada gambar 2. dan 3. Pada gambar tersebut menunjukkan bahwa pada kadar 20 ppm dan 30 ppm kerapatan sel mieloma berkurang lebih banyak terutama pada kadar 30 ppm.

Hasil penelitian dari pemberian ekstrak daun benalu duku menunjukkan kecenderungan terjadinya peningkatan kemampuan hambat terhadap sel mieloma

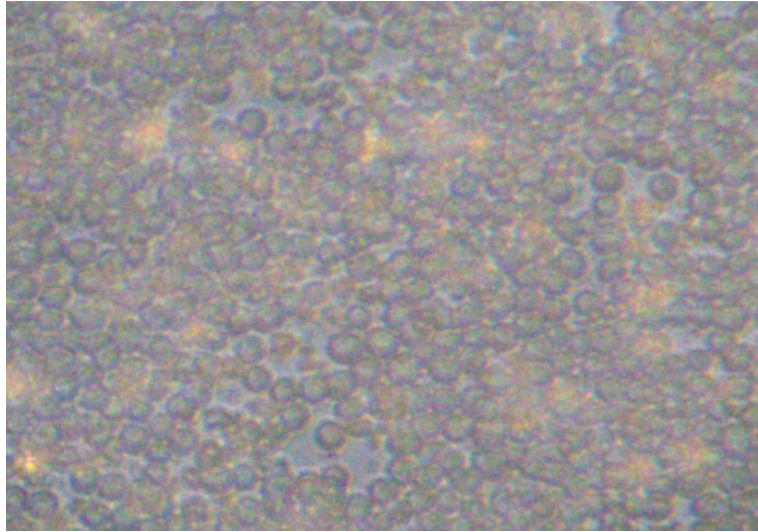


Gambar 2. Sel perlakuan pasca pemberian 20 ppm ekstrak daun benalu duku (200x).



Gambar 3. Sel perlakuan pasca pemberian 30 ppm ekstrak daun benalu duku (200x).

Pada sel kontrol tampak bahwa kondisi sel perlakuan tidak terjadi penghambatan terhadap sel mieloma hal ini dikarenakan sel tersebut tidak memiliki aktivitas hambatan pertumbuhan terhadap sel mieloma sebagaimana yang dimiliki oleh kelompok larutan uji. Hal tersebut tampak pada gambar 4.



Gambar 4. Sel kontrol pasca pemberian NaCl 100 μ l (200x)

Penghitungan sel dilakukan dengan cara pewarnaan dengan menggunakan *methylen blue* 0,5%. Prinsip dari pewarnaan yang digunakan adalah dengan melihat sel mati berdasarkan penyerapan membran sel terhadap zat warna. Sel yang mati akan terwarnai karena integritas dari membran sel terganggu atau rusak, sedangkan sel hidup tetap jernih karena membran sel masih kuat dan mempunyai sifat selektif permeabel terhadap bahan-bahan asing yang masuk.

Menurut Farida *et al.*, (2000) secara teoritik diketahui bahwa kadar 20 ppm suatu sediaan galenika merupakan kadar lazim yang dipakai sebagai sediaan obat. Sehingga dapat disimpulkan bahwa ekstrak daun benalu duku memiliki prospektif sebagai antikanker.

Ditinjau dari mekanisme penghambatan sel mieloma secara *in vitro* dari kelompok tumbuhan benalu, hingga saat ini belum banyak ditemui adanya laporan. Namun diperkirakan alkaloid *viscotoxin* bersifat sebagai sitosidal

terhadap sel tumor melalui penghambatan pembentukan protein tingkat metabolisme asam inti (Indarwati, 1999).

Kesimpulan

Ekstrak daun benalu duku dengan kemampuan antiproliferatif terhadap sel mieloma diketahui mulai pada kadar 100 ppm.

Ucapan Terima Kasih

Dr. Mochamad Lazuardi M.Si., Drh., Tjuk Imam Restiadi, M.Si., Hj. Nuraini Farida, Dra., Apt., M.S., Thomas V Widiyatno, M.Si., Drh., Setyawati Sigit, M.S., Drh., Dr. Dewa Ketut Meles, M.S., Drh. atas bimbingan dan saran yang diberikan kepada penulis.

Daftar Pustaka

- Djoko A. P. 1997. Analisis DNA Terakilasi Oleh 1,2-Dimetilhidrasin Ekstrak Teh Hijau (*Camellia sinensis*). Laporan Penelitian Dasar Tahun Anggaran 1996/1997. Direktorat Jendral Pendidikan Tinggi. Departemen Pendidikan Dan Kebudayaan.
- Farida, N., M. Lazuardi., Siti, F. 2000. *The study of anti cancer of benalu duku (Loranthaceae dendrophthoe species) infusion to the myeloma induced rat*. Jurnal Kedokteran Yarsi 8 (1) : 59-71.
- Indrawati, R. 1999 Pengkajian Kemampuan Hambatan Pertumbuhan Sel Kanker Mieloma Secara In Vitro Antara Maserasi Benalu Duku Dan Maserasi Benalu Teh Dibandingkan Metotreksat. [http:// adln. lib. Unair. ac. id/ go. php? id = Jiptunair-gdl-res-1999-indrawati 2c-349-parasites & node =234](http://adln.lib.unair.ac.id/go.php?id=Jiptunair-gdl-res-1999-indrawati_2c-349-parasites_&node=234).
- Mutschler, E. 1991. *Dinamika Obat*, Edisi 5. Diterjemahkan Oleh Mathilda, B, Widiyanto dan Ana Setiadi Ranti. Penerbit ITB, Bandung. 700-770.
- Robins, S.L. and M.D. Kumar. 1997. *Basic Pathology part I*. W.B. Sauder Co. Philadelphia. 112-207.
- Wahyuningsih, M. S. H., Yustina. A. A. A . 1999. *Effect of Benalu (Dendrophthoe sp.) Leaves Extract On The Male Rat (Rattus Norvegicus) Benzidine Induced Hepatotoxicity*. Jurnal Kedokteran Yarsi 7 (1) : 121-132.