**UJI EFEK ANTI KANKER EKSTRAK ETANOL**

**DAUN “AKA LAMBUANG” (*Merremia peltata* (L.) Merr.)**

**PADA MENCIT PUTIH JANTAN**

**DENGAN METODA *MICRONUCLEUS ASSAY***

Oleh

# Yohannes Alen, Suhatri, Rani Selawati

Fakultas Farmasi Universitas Andalas

**ABSTRAK**

Telah diteliti efek antikanker ekstrak etanol daun ”Aka Lambuang” (*Merremia peltata* (L.) Merr.) pada mencit putih jantan dengan metoda *Micronucleus Assay*. Penginduksi pembentukan sel mikronuklei Mencit digunakan siklofosfamida dosis tunggal 50 mg/kgBB secara intraperitoneal untuk. Parameter yang diamati adanya efek yaitu penurunan jumlah sel mikronuklei pada apusan sumsum tulang femur dan nilai hematokrit mencit percobaan.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian ekstrak (dosis 30, 100, dan 300 mg/kgBB) menyebabkan penurunan jumlah sel mikronuklei dibandingkan jumlah sel mikronuklei kelompok hewan yang hanya diberi siklofosfamida (kelompok kontrol positif) secara bermakna (P<0,05). Penurunan ini sebanding dengan peningkatan dosis dan lama pemberian ekstrak. Pemberian ekstrak juga dapat meningkatkan nilai hematokrit hewan percobaan dibandingkan kelompok hewan yang diberi siklofosfamida secara bermakna (P<0,05).

**I PENDAHULUAN**

Secara tradisional, daun tumbuhan *Merremia peltata* (L.) Merr., atau yang dikenal dengan nama “Aka Lambuang” telah digunakan oleh masyarakat sebagai anti kanker dengan cara meminum air rebusannya. Daun “Aka Lambuang” juga digunakan untuk pengobatan luka dan bengkak, terutama pada nodus limfatik, dengan cara menempelkan daun yang sudah dihaluskan pada permukaan kulit yang sakit. Di samping itu, getah dari batang tumbuhan ini juga dapat digunakan untuk mengobati sesak nafas dan gejala asma. Tumbuhan ini juga dapat digunakan sebagai obat diare, sakit perut, batuk, sakit mata, dan radang (Hertel, H 2007)**.**

Kanker merupakan penyakit yang ditandai dengan terjadinya pembentukan jaringan baru yang abnormal dan bersifat ganas serta tidak terkendali (Zwavelling, A 1985) Kanker dapat disebabkan oleh faktor endogen maupun eksogen. Faktor endogen dapat berupa faktor genetik, penyakit, dan hormon. Sedangkan faktor eksogen dapat berasal dari makanan, virus, senyawa-senyawa karsinogenik seperti polusi udara, zat warna, logam-logam karsinogen, dan banyak penyebab lainnya seperti siklofosfamida (Mosmann, T 1993; Hanahan, D 2000).

Pengobatan kanker secara medis dilakukan dengan terapi penyinaran, pembedahan, dan kemoterapi (Calabresi, P 2001). Obat antikanker yang ideal seharusnya dapat menghabiskan sel kanker tanpa membahayakan jaringan sehat. Namun sampai sekarang belum ditemukan obat yang memenuhi kriteria demikian (Fahmi, U 1993 ). Pemakaian sitostatika sebagai antikanker menimbulkan efek samping yang besar, diantaranya kerusakan pada jaringan dengan laju proliferasi yang tinggi. Sebagian besar sitostatika juga bersifat karsinogenik pada dosis tinggi. Oleh karena itulah usaha penelitian besar-besaran terus dilakukan sampai saat ini untuk menemukan obat antikanker yang ideal.

Pada penelitian ini dilakukan pengujian efek anti kanker dari ekstrak etanol daun “Aka Lambuang” secara *In vivo* dengan metode *Micronucleus Assay*.. Penginduksi pembentukan sel mikronuklei Mencit digunakan siklofosfamida. Dari penelitian ini diharapkan akan didapat hasil yang mendukung penggunaan tumbuhan ini secara tradisional oleh masyarakat sebagai anti kanker

**PELAKSANAAN PENELITIAN**

**Pembuatan Sediaan Uji:** Sediaan ekstrak daun “Aka Lambuang” yang dibuat dengan menggunakan tween 80 2% Dosis yang digunakan untuk adalah 30, 100, dan 300 mg/KgBB.

**Hewan Percobaan:** digunakan mencit putih (*Mus musculus)* jantan galur DYY yang berumur 2

 - 3 bulan dengan BB 30 – 40 gram. .

**Pengujian Efek Antikanker**

Hewan dibagi lagi dalam 3 kelompok berdasarkan lama pemberian sediaan uji. Lama pemberian sediaan uji untuk masing-masing kelompok adalah 3, 7, dan 15 hari. Untuk semua kelompok kecuali kontrol negatif, hewan diinduksi dengan siklofosfamida 50 mg/KgBB pada hari ke-0. Setelah 30 jam, hewan diberikan sediaan uji berdasarkan kelompok masing-masing. Perlakuan masing-masing kelompok adalah sebagai berikut:

1. Kelompok kontrol negatif diberi larutan tween 80 2% secara oral setiap hari. 1 kelompok selama 3 hari , hari ke-4 dikorbankan. Kelompok 2 selama 7 hari hari ke-8 dikorbankan. Kelompok 3 selama 15 hari hari ke-16 dikorbankan.
2. Kelompok II : Kelompok kontrol positif yang diinduksi dengan siklofosfamida dosis 50 mg/KgBB pada hari ke-0. Setelah 30 jam, diberi larutan tween 80 2% sama seperti kelompok control negatif
3. Kelompok III, IV, dan V : Kelompok uji yang diinduksi dengan siklofosfamida dosis 50 mg/KgBB pada hari ke-0. Setelah 30 jam, diberi sediaan uji dengan dosis (30, 100 dan 300) mg/KgBB secara oral setiap hari dan dikorbankan pada hari ke-4, hari ke-8 dan hari ke-16.
4. Masing-masing darahnya ditampung untuk penetapan nilai hematokrit,
5. Sumsum tulang femurnya. dimasukkan ke dalam campuran serum darah sapi dengan buffer phospat (1:1 v/v), lalu dikocok, dibiarkan selama 30 detik dan disentrifus selama 5 menit dengan kecepatan 2000 rpm. Sumsum dibuang dan peletnya disuspensikan ke dalam 0,5 ml serum darah sapi-buffer phospat (1:1 v/v ). Pembuatan preparat apusan tulang femur mencit dilakukan menurut metoda Busk, L1984; Complience 2007.

**HASIL DAN PEMBAHASAN**

Tabel1. Persentase sel mikronuklei setelah 3, 7, dan 15 hari pemberian ekstrak etanol daun “Aka Lambuang” (*Merremia peltata* (L.) Merr.) pada mencit putih jantan.

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Kelompok perlakuan | Replikasi | Persentase jumlah sel mikronuklei pada hari ke- |
| **3** | **7** | **15** |
| Kelompok I | 1 | 63,11 | 65,87 | 72,35 |
| Kontrol positif | 2 | 60,15 | 62,04 | 70,20 |
|  | 3 | 57,14 | 70,81 | 64,90 |
|  | Rata-rata±SD | **60,13 ± 2,99** | **66,24 ± 4,40** | **69,15 ± 3,83** |
| Kelompok II | 1 | 22,26 | 24,88 | 19,42 |
| Kontrol negatif | 2 | 17,39 | 24,38 | 20,13 |
|  | 3 | 21,33 | 19,88 | 20,27 |
|  | Rata-rata±SD | **20,33 ± 2,59** | **23,05 ± 2,75** | **19,94 ± 0,46** |
| Kelompok III | 1 | 53,01 | 48,31 | 43,49 |
| Dosis 30 mg/KgBB | 2 | 49 | 47,75 | 41,08 |
|  | 3 | 52,09 | 48,17 | 44,52 |
|  | Rata-rata±SD | **51,37 ± 2,10** | **48,08 ± 0,29** | **43,03 ± 1,77** |
| Kelompok IV | 1 | 40,37 | 38,34 | 36,63 |
| Dosis 100 mg/KgBB | 2 | 42,12 | 41,10 | 35,09 |
|  | 3 | 46,85 | 37,78 | 35,78 |
|  | Rata-rata±SD | **43,11 ± 3,35** | **39,07 ± 1,78** | **35,83 ± 0,77** |
| Kelompok V | 1 | 41,84 | 33,52 | 25,86 |
| Dosis 300 mg/KgBB | 2 | 41,26 | 37,50 | 27,51 |
|   | 3 | 42,75 | 36,44 | 24,26 |
|   | Rata-rata±SD | **41,95 ± 0,75** | **35,82 ± 2,06** | **25,88 ± 1,63** |

Keterangan : SD = Standar Deviasi

 Hasil pada kelompok hewan yang diinduksi dengan siklofosfamida dosis 50 mg/kg BB, rata-rata jumlah sel mikronukleinya 60,13% setelah 3 hari, 66,24% setelah 7 hari, dan 69,15% setelah 15 hari. Pada kontrol negatif, hanya 20,33% setelah 3 hari, 23,05% setelah 7 hari, dan 19,94% setelah 15 hari. Hal ini menunjukkan bahwa pemberian siklofosfamida dosis tunggal 50 mg/KgBB secara intraperitoneal dapat meningkatkan jumlah sel mikronuklei.

Gambar1. Grafik hubungan antara persentase sel mikronuklei dengan waktu pengamatan pada mencit putih jantan.

Dari tabel 1 persentase jumlah sel mikronuklei dapat dilihat setelah pemberian ekstrak etanol daun “Aka Lambuang” selama 3, 7 dan 15 hari pengamatan pada dosis 30 mg/KgBB adalah 51,37%, 48,08%, dan 43,03% ; pada dosis 100 mg/KgBB adalah 43,11%, 39,07%, dan 35,83% ; serta pada dosis 300 mg/KgBB adalah 41,95%, 35,82%, dan 25,88%. Berdasarkan hasil tersebut, terlihat bahwa telah terjadi penurunan jumlah sel mikronuklei pada kelompok hewan percobaan yang diberi ekstrak daun “Aka Lambuang” dibandingkan dengan kontrol positif, penurunan ini meningkat dengan kenaikan dosis dan lama pemberian ekstrak. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak “Aka Lambuang” ini mempunyai aktivitas sebagai anti-kanker. Penurunan terbesar dibandingkan terhadap kontrol positif, aktivitas terbesar, diperoleh pada dosis 300 mg/kg BB selama 15 hari pemberian ekstrak, yaitu sebesar 62,57%

uji analisa sidik ragam (ANOVA) dua arah diketahui bahwa dosis dan lama pemberian ekstrak mempengaruhi jumlah sel mikronuklei rata-rata hewan percobaan secara bermakna (p < 0,05). Interaksi antara dosis dan lama pemberian ekstrak uji juga memberikan pengaruh terhadap penurunan jumlah sel mikronuklei pada hewan percobaan (p< 0,05) Dari hasil uji Duncan, diketahui bahwa terdapat perbedaan persentase sel mikronuklei yang sangat nyata antara tiap-tiap dosis. Sementara dari hasil uji lanjut terhadap waktu, terdapat perbedaan yang nyata antara jumlah sel mikronuklei kelompok 3 hari dibandingkan terhadap kelompok 15 hari. tidak terdapat perbedaan yang nyata antara kelompok 3 hari terhadap kelompok 7 hari, dan antara kelompok 7 hari terhadap kelompok 15 hari.

Tabel 2. Nilai hematokrit setelah 3, 7, dan 15 hari pemberian ekstrak etanol daun “Aka Lambuang” (*Merremia peltata* (L.) Merr.) pada mencit putih jantan.

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Kelompok perlakuan | Replikasi | Persentase Hematokrit pada hari ke- |
| **3** | **7** | **15** |
| Kelompok I | 1 | 32,73 | 39,51 | 38,60 |
| Kontrol positif | 2 | 39,76 | 38,37 | 38,37 |
|  | 3 | 41,77 | 43,86 | 37,41 |
|  | Rata-rata±SD | **38,09 ± 4,75** | **40,58 ± 2,90** | **38,13 ± 0,63** |
| Kelompok II | 1 | 44,26 | 40,66 | 41,67 |
| Kontrol negatif | 2 | 44,44 | 42,86 | 45,45 |
|  | 3 | 40,00 | 42,68 | 42,46 |
|  | Rata-rata±SD | **42,90 ± 2,51** | **42,07 ± 1,22** | **43,19 ± 1,99** |
| Kelompok III | 1 | 42,37 | 45,16 | 45,05 |
| Dosis 30 mg/KgBB | 2 | 39,80 | 39,89 | 44,56 |
|  | 3 | 39,68 | 44,44 | 44,87 |
|  | Rata-rata±SD | **40,62 ± 1,52** | **43,16 ± 2,86** | **44,83 ± 0,25** |
| Kelompok IV | 1 | 40,47 | 44,44 | 43,86 |
| Dosis 100 mg/KgBB | 2 | 43,84 | 44,44 | 46,48 |
|  | 3 | 39,33 | 45,74 | 44,40 |
|  | Rata-rata±SD | **41,21 ± 2,34** | **44,87 ± 0,75** | **44,91 ± 1,38** |
| Kelompok V | 1 | 42,31 | 44,19 | 48,00 |
| Dosis 300 mg/KgBB | 2 | 41,30 | 43,84 | 46,67 |
|   | 3 | 38,89 | 43,82 | 45,71 |
|   | Rata-rata±SD | **40,83 ± 1,76** | **43,95 ± 0,21** | **46,79 ± 1,15** |

Keterangan : SD = Standar Deviasi

Rata-rata nilai hematokrit mencit jantan pada kelompok kontrol positif setelah 3, 7, dan 15 hari penginduksian ialah 38,09%, 40,58%, dan 38,13%. Nilai ini berada di bawah kadar normal, dimana nilai hematokrit normal untuk pria ialah 40 – 48 vol %. Nilai ini mengalami penurunan dibandingkan terhadap kontrol negatif, yaitu 42,90%, 42,07%, dan 43,19%. Hal ini menunjukkan bahwa pemberian siklofosfamid dosis tinggi menyebabkan penurunan nilai hematokrit, yaitu volume eritrosit dalam 100 ml darah. Penurunan nilai hematokrit ini disebabkan oleh kelainan hematologik, yaitu berupa anemia. Karena antikanker umumnya bekerja pada sel yang sedang aktif, maka efek sampingnya juga terutama mengenai jaringan dengan proliferasi tinggi, termasuk penekanan sistem hemopoetik (Calabresi, P 2001)

Gambar 2. Grafik hubungan antara persentase hematokrit dengan waktu pengamatan pada mencit putih jantan.

Dari tabel 2 nilai hematokrit rata-rata setelah pemberian ekstrak etanol daun “Aka Lambuang” selama 3, 7 dan 15 hari pengamatan pada dosis 30 mg/KgBB adalah 40,62%, 43,16%, dan 44,83% ; pada dosis 100 mg/KgBB adalah 41,21%, 44,87%, dan 44,91% ; serta pada dosis 300 mg/KgBB adalah 40,83%, 43,95%, dan 46,79%. Dibandingkan terhadap kontrol positif, nilai ini meningkat dengan peningkatan dosis dan lama waktu pemberian ekstrak. Ekstrak daun “Aka Lambuang” dapat meningkatkan nilai hematokrit mencit putih jantan. Peningkatan nilai hematokrit ini diduga karena ekstrak “Aka Lambuang” bekerja memperbaiki fungsi sel induk primordial pada sumsum tulang sehingga dapat menghasilkan sel-sel darah secara normal, termasuk sel eritrosit.

Analisa sidik ragam (ANOVA) dua arah diketahui bahwa dosis dan lama pemberian ekstrak mempengaruhi nilai hematokrit rata-rata hewan percobaan secara bermakna (p < 0,05). Interaksi antara kedua faktor tersebut tidak menunjukkan hasil yang bermakna (p < 0,05)

Dari uji lanjutan berjarak Duncan terhadap dosis, terdapat perbedaan yang nyata antara nilai hematokrit kelompok mencit kontrol positif dengan ketiga kelompok dosis. Akan tetapi, tidak terdapat perbedaan nilai hematokrit yang nyata antara tiap-tiap kelompok dosis (30 mg/kg BB, 100 mg/kg BB, dan 300 mg/kg BB). Hasil uji Duncan terhadap waktu, tidak terdapat perbedaan nilai hematokrit yang nyata antara tiap-tiap kelompok hari (3 hari, 7 hari, dan 15 hari).

****

Gambar 7. Foto pemeriksaan preparat apusan sumsum tulang femur mencit kelompok kontrol positif setelah 15 hari penginduksian perbesaran 10 x 100.

****

Gambar 8. Foto pemeriksaan preparat apusan sumsum tulang femur mencit kelompok dosis III (300 mg/kg BB) setelah 15 hari penginduksian perbesaran 10 x 100.

**Keterangan** : A = Sel Mikronuklei

B = Sel Normal

**.**

**KESIMPULAN DAN SARAN**

1. Ekstrak etanol daun “Aka Lambuang” (*Merremia peltata* (L.) Merr.) pada dosis 30, 100, dan 300 mg/KgBB mempunyai aktivitas antikanker. Hal ini dapat dilihat dari penurunan jumlah sel mikronuklei pada sumsum tulang femur serta peningkatan nilai hematokrit mencit percobaan secara bermakna dibandingkan kontrol positif. Aktivitas antikanker meningkat dengan peningkatan dosis dan lama waktu pemberian ekstrak. Aktivitas antikanker terbaik dari penelitian ini ditunjukkan oleh pemberian ekstrak pada dosis 300 mg/KgBB selama 15 hari.
	1. **Saran**

isolasi senyawa aktif antikanker dari ekstrak etanol daun “Aka Lambuang”.

**DAFTAR PUSTAKA**

1. Ariantoni, “Uji Efek Anti Kanker Ekstrak Etanol Daun Ekor Naga (*Epipremnosis media* (Z. & M.) Engl.) pada Mencit Putih Jantan dengan Metoda Micronucleus Assay”, *Skripsi S1,* Jurusan Farmasi FMIPA Universitas Andalas, Padang, 2006.
2. Busk, L., B. Sjostrom and U. G. Ahlborg, “Effect of Vitamin A on Cyclophospamida Mutagenicity In vitro (Ames Test) and in vivo (Mouse Micronucleus Test)”, *Fd. Chem, Toxic*, 22, 1984.
3. Calabresi, P. and B. A. Chabner, “Chemotherapy of Neoplastic Diseases” *in* Goodman, L. S. and A. Gilman, *The Pharmacological Basic of Therapeutics*, 10th Edition, The Mc Graw-Hill Companies Inc., New York, 2001.
4. Complience Resource Centre, *In Vivo Mammalian Bone Marrow Cytogenics Test: Micronucleus Assay,* http://www.setonserourcecentre.com. Accessed January, 2007.
5. Fahmi, U., S. Syamsudin dan N. Akbar, ” Perilaku Hidup Sehat Mengurangi Resiko Kanker”, *Proceeding* : 16 thn Yayasan Kanker Indonesia, Jakarta, 1993.
6. Fitriwati, “Isolasi Senyawa Antioksidan dari Fraksi EtOAc Daun ”Aka Lambuang” (*Merremia peltata* (L.) Merr.”, *Skripsi S1,* Jurusan Farmasi FMIPA Universitas Andalas, Padang, 2007.
7. Hanahan, D., R. A. Weinberg, “The Hallmark of Cancer”, *Cell*, 100**:** 57-70, 2000.
8. Herbal Database, *Merremia peltata (Linn.) Merr. Bulakan,* http://www.bpi.da. gov.ph/Publications/mp/pdf/b/bulakan.pdf , Accessed Juli 2007.
9. Irawati, “Skrining Antikanker dari Fraksi Kloroform Tumbuhan *Ficus* Sp terhadap Mencit Putih Jantan”, *Skripsi S1*, Jurusan Farmasi FMIPA Universitas Andalas, Padang, 2004.
10. Kardinan, A., *Tanaman Obat Penggempur Kanker,* PT. Agromedia Pustaka, Jakarta, 2003.
11. Mosmann, T., “Rapid Colorimetric Assay for Cellular Growth and Survival: Application to Proliferation and Citotoxicity Assays”, *Journal of Immunological Methods*, 65, 1993, 55-63.
12. Thompon, E. B., *Drug Bioscreening : Fundamental of Drug Evaluation Techniques in Pharmacology,* Graceway Publishing Company Inc., New York, 1985.
13. United States Food and Drug Administration, *Toxicological Principles for the Safety Assesment of Food Ingradients: Mammalian Erithrocyte Micronucleus Test,* http://[www.cfsan.fda.gov](http://www.cfsan.fda.gov). Accessed January 2007.
14. Zwavelling, A., R. J. V. Zonneveld, A. Schaberg, *Onkologi*, diterjemahkan oleh Tim Kanker Fakultas Kedokteran Universitas Gadjah Mada, Penerbit Balai Pustaka, Jakarta, 1985.