

**Potensi Ekstrak Etanol Daun Keladi Tikus (*Typhonium flagelliforme* Lodd.)
Sebagai Induktor Apoptosis Sel Kanker Lidah Manusia (SP-C1)**

**Potency Ethanolic Extract of *Typhonium flagelliforme* Lodd Leaves
as an apoptotic inductor of Human Oral Tongue
Cancer Cell Supri's Clone-1 (SP-C1)**

**Himmaturojuli Rosyid Ridlo¹, Supriatno², Ana Medawati³
Atiek Driana Rahmawati⁴**

¹*Mahasiswa PSPDG FKIK UMY*

²*Departemen Ilmu Penyakit Mulut, FKG UGM*

³*Departemen Biomedis KG, PSPDG FKIK UMY*

⁴*Departemen Ilmu Kedokteran Gigi Anak, PSPDG FKIK UMY*

Abstract

Typhonium flagelliforme Lodd has been used traditionally to cure breast cancer, lung, colon, rectum, liver, prostate, kidney, cervix, throat, bone, brain, spleen, bladder, leukimia and pancreas cancer. The ethanolic extract of *Typhonium flagelliforme* Lodd contained active compounds that could inhibit cancer cell growth. One of the active compounds was saponin and phenolic. The aim of study was to examine the potency ethanolic extract of *Typhonium flagelliforme* Lodd. as inductor of apoptosis in human oral tongue cancer cell *Supri's Clone-1* (SP-C1). The design of used in this study was pure laboratoris experimental with human oral tongue cancer cells line (SP-C1) as a sample which treated by ethanolic extract of *Typhonium flagelliforme* Lodd in various concentrations (0, 25, 50, 75, 100, 125 µg/ml) for 48 hours. Apoptosis examination was carried out by painting with etidium bromide-acridin orange. The result of the study showed that etanolic extract of *Typhonium flagelliforme* Lodd. induced apoptotic SP-C1 cell line. Statistical analisis with One Way Anova revealed etanolic extract in various concentration have significant differences (P=0,00) after treated with etanolic extract *Typonium flagelliforme* Lodd. It also found that the most effective concentration inducing apoptosis of human tongue cancer cells *Supri's Clone-1* (SP-C1) was the 125 µg/mL. The conclusion of this research, ethanolic extract of *Typhonium flagelliforme* Lodd. has a potency to induce apoptosis human oral tongue cancer cells (SP-C1).

Key words : *apoptosis, cancer cell, Typhonium flagelliforme* Lodd.

Abstrak

Typhonium flagelliforme Lodd. telah sejak lama digunakan sebagai tanaman obat tradisional yang bermanfaat ununtuk penyembuhan penyakit kanker payudara, paru-paru, usus besar, rec-tum, hati, prostat, ginjal, leher rahim, tenggorokan, tulang, otak, limpa, empedu, leukimia, kanker pankreas. Ekstrak etanol *Typhonium flagelliforme* Lodd. mengandung senyawa aktif yang dapat menghambat pertumbuhan sel kanker. Salah satu komponen aktif tersebut adalah saponin dan fenol. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui potensi ekstrak etanol *Ty-phonium flagelliforme* Lodd. sebagai induktor apoptosis sel kanker lidah manusia *Supri's Clone-1* (SP-C1). Jenis penelitian ini adalah penelitian eksperimental laboratoris murni meng-gunakan sampel sel kanker lidah manusia (SP-C1) sebagai sampel yang diberi perlakuan den-

gan pemberian ekstrak *Typhonium flagelliforme* Lodd. berbagai konsentrasi (0, 25, 50, 75, 100, 125 µg/ml) selama 48 jam. Pemeriksaan apoptosis dilakukan dengan pengecatan *etidium bromide-acridin orange*. Uji Statistik menggunakan uji Anava satu jalur. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa ekstrak etanol keladi tikus menginduksi apoptosis sel kanker lidah manusia SP-C1. Hasil uji statistik menunjukkan ekstrak etanol *Typhonium flagelliforme* Lodd berbagai konsentrasi mempunyai perbedaan yang signifikan ($P=0,000$). Konsentrasi ekstrak yang paling efektif untuk menginduksi apoptosis sel kanker lidah manusia *Supri's Clone-1* (SP-C1) adalah konsentrasi 125 µg/mL. Kesimpulan : ekstrak etanol *Typhonium flagelliforme* Lodd. mempunyai potensi sebagai induktor apoptosis sel kanker lidah manusia (SP-C1).

Kata kunci : Apoptosis, sel kanker lidah manusia, *Typhonium flagelliforme* Lodd

Pendahuluan

Keladi tikus (*Typhonium flagelliforme* Lodd) merupakan tanaman herbal dari famili *Araceae* yang tumbuh liar di tempat yang lembap¹. Tanaman tersebut mudah ditemukan di sepanjang pantai utara pulau Jawa. Keladi tikus memiliki ciri khas berupa bunga unik yang bentuknya menyerupai ekor tikus. Kelopak bunga berbentuk bulat lonjong, berwarna kekuningan, bertangkai dan panjangnya 4-8 cm.² Keladi tikus memiliki berbagai khasiat antara lain anti virus, anti bakteri, anti radang dan anti kanker³. Kandungan tanaman keladi tikus yang memiliki efek anti kanker adalah triterpenoid, alkaloid, polifenol, *Ribosome Inactivating Protein (RIP)* dan fitol^{3,4}.

Ekstrak tanaman keladi tikus menghambat aktivitas sel kanker dengan aksi antiproliferasi nonspesifik dan menginduksi apoptosis⁶

Apoptosis atau suatu bentuk kematian sel yang diprogram oleh informasi genetik yang ada didalam sel. Aktifasi gen atau pelepasan beberapa proses dari inhibisi normal yang akan mencetuskan kejadian-kejadian yang akan menyebabkan kematian sel. Berbagai stimulus pencedera ekstrinsik dapat mencetuskan apoptosis, tetapi apoptosis dapat juga merupakan bagian dari proses fisiologi tubuh. Proses tersebut biasanya melibatkan sel-sel tunggal atau kelompok beberapa sel dan seiring dengan sel tersebut mati, sel tersebut membentuk fragmen menjadi potongan-potongan yang terikat membran yang

dengan cepat difagositosis oleh sel-sel disebelahnya atau oleh makrofag. Kematian sel yang terprogram diperlukan untuk menghancurkan sel-sel yang merupakan ancaman bagi integritas organisme, seperti pada sel-sel yang terinfeksi oleh virus, sel-sel sistem imun, sel-sel dengan kerusakan DNA, dan sel-sel kanker.⁷

Kanker lidah merupakan salah satu masalah kesehatan utama di dunia yang mempunyai tingkat insidensi yang tinggi di beberapa negara di dunia. Kanker lidah paling banyak terjadi di negara berkembang dan mempunyai karakteristik invasi dan metastasis sel ke limfonodi servikal yang tinggi. Kanker tersebut sering pula menyebabkan rekurensi lokal karena rerjadi invasi dan/atau metastasis mikro dari sel kanker primer. Sampai saat ini perawatan sel kanker lidah masih dilakukan secara konvensional seperti kemoterapi, radioterapi, pembedahan dan terapi kombinasi yang masih belum menunjukkan lamanya hidup penderita secara signifikan. Prognosis kanker lidah tidak berubah selama 10 tahun terakhir.⁸

Penelitian ini bertujuan untuk mengkaji kemampuan ekstrak etanol daun keladi tikus (*Typhonium flagelliforme* Lodd) sebagai induktor apoptosis sel kanker lidah manusia (SP-C1).

Bahan dan Cara

4. Pembuatan ekstrak etanol Keladi tikus (*Typhonium Flagelliforme* Lodd.)

Daun Keladi tikus (*Typhonium flagelliforme* Lodd) dikeringkan dalam almari pengering pada suhu 45° C, Daun Keladi tikus (*Typhonium flagelliforme* Lodd) yang sudah kering dijadikan serbuk menggunakan blender sampai halus. Pembuatan ekstrak ini menggunakan cara maserasi, yaitu dengan merendam 1000 mg bubuk daun Keladi tikus (*Typhonium flagelliforme* Lodd) dalam 1000 ml etanol 70% selama 1 minggu. Selanjutnya dilakukan pemisahan zat aktif dan etanol menggunakan vaccum evaporator. Zat aktif dibuat stok 1 gr/ml, selanjutnya dibuat konsentrasi 0, 25, 75, 100, dan 125 mg/ml.

5. Persiapan biakan sel SP-C1

Sel SP-C1 dikloning dan dibiakkan dalam larutan RPMI, 10% FBS dan antibiotik (penisilin-streptomisin 3%) dalam cawan petri dengan diameter 100 mm. Sel diinkubasi pada suhu 37° C dengan kelembaban udara 95% dan CO₂ 5%.

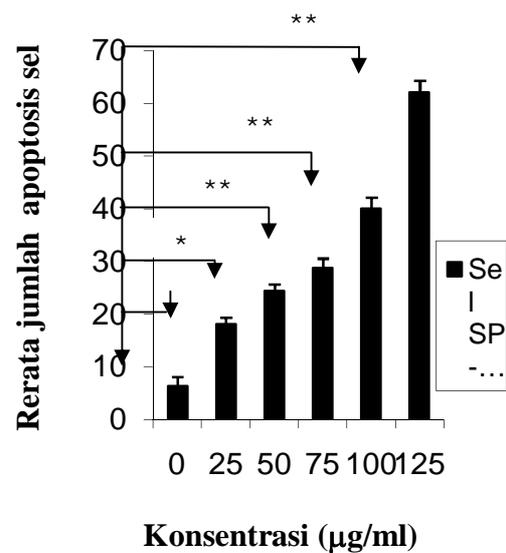
6. Uji Apoptosis

Sel SP-C1 yang tumbuh *subconfluent* dipanen menggunakan Tripsin-EDTA 0,25%. Sel sebanyak 3x10⁵ sel dibiakkan dalam cawan petri dengan diameter 60 mm, sesuai jumlah konsentrasi ekstrak etanolik daun Keladi tikus (*Typhonium flagelliforme* Lodd) yang digunakan. Sel diinkubasi selama 24 jam. Setelah inkubasi, semua media dibuang dan diganti dengan media baru yang mengandung berbagai konsentrasi ekstrak daun Keladi tikus (*Typhonium flagelliforme* Lodd.). Sel diinkubasi selama 48 jam. Sel dile-takkan di *glass slide*, kemudian dicat dengan *acridine orange* sebanyak 1 ml selama 5 menit diruangan yang gelap. Lakukan pengamatan di bawah mikroskop flouresence, kemudian hitung sel yang mengalami apoptosis. Penampakan sel yang mengalami apoptosis yaitu sel yang mengalami apoptosis akan berwarna kuning karena meyerap zat warna sedangkan sel yang hidup adalah yang berwarna hijau.

Hasil Penelitian

Data rerata dan standar deviasi sel yang mengalami apoptosis setelah inkubasi dengan ekstrak etanol daun keladi Tikus Selama 48 jam menunjukkan menunjukkan bahwa jumlah rerata apoptosis sel SP-C1 diketahui meningkat mulai dari konsentrasi 25 µg/ml sampai pada konsentrasi 125 µg/ml. Konsentrasi ekstrak etanol daun keladi tikus yang memiliki pengaruh terkecil pada apoptosis sel adalah pada konsentrasi 25 µg/ml yaitu dengan rerata 6,33 ± 2,1, sedangkan konsentrasi yang memiliki pengaruh terbesar pada konsentrasi 125 µg/ml yaitu dengan rerata 62,00 ± 3,0.

Gambaran lebih jelasnya mengenai hasil penelitian induksi apoptosis sel SP-C1 menggunakan daun keladi tikus dapat dilihat pada Gambar berikut ini:



Keterangan : * signifikansi
** lebih signifikansi

Gambar Grafik rerata dan standar deviasi induksi apoptosis sel kanker lidah manusia (SP-C1) setelah perlakuan dengan menggunakan ekstrak etanol daun keladi tikus konsentrasi 0, 25, 50, 75, 100 dan 125 µg/ml inkubasi selama 48 jam.

Berdasarkan grafik di atas diketahui bahwa jumlah sel SP-C1 yang mengalami apoptosis diketahui meningkat dari konsentrasi 25 µg/ml sampai konsentrasi 125 µg/ml

dengan perbedaan paling bermakna terdapat pada konsentrasi 125 µg/ml.

Hasil uji distribusi normal dan homogenitas variansi menunjukkan angka signifikansi *Shapiro-Wilk* $p > 0,05$. Selanjutnya untuk menilai tingkat signifikansi apoptosis sel SP-C1 dilakukan uji parametrik ANAVA satu jalur.

Hasil uji ANAVA satu jalur menunjukkan nilai signifikansi 0.000 ($p < 0,05$), maka dapat diambil kesimpulan bahwa terdapat perbedaan yang sangat bermakna dari jumlah sel yang mengalami apoptosis setelah diberi berbagai konsentrasi ekstrak etanol daun keladi tikus (*Typhonium flagelliforme* Lodd.). Hasil uji Tukey LSD memperlihatkan terdapat perbedaan rerata antara masing-masing konsentrasi ekstrak etanol daun keladi tikus.

Diskusi

Hasil penelitian menunjukkan hasil ekstrak etanol daun keladi tikus (*Typhonium flagelliforme* Lodd) mempunyai pengaruh dalam menginduksi apoptosis sel kanker lidah manusia SP-C1.

Pengaruh terbesar pada konsentrasi 125 µg/ml sebesar $62,00 \pm 3,0$. Hal tersebut sesuai dengan penelitian sebelumnya bahwa tanaman *Typhonium flagelliforme* mampu menghambat pertumbuhan dan menginduksi apoptosis sel kanker pada paru-paru manusia secara *in vitro*.⁶

Gambaran grafik sebelumnya, memperlihatkan konsentrasi ekstrak etanol daun keladi tikus yang memiliki pengaruh terkecil pada apoptosis sel adalah pada konsentrasi 25 µg/ml yaitu dengan rerata sebesar $6,33 \pm 2,1$ sedangkan konsentrasi ekstrak etanol daun keladi tikus yang memiliki pengaruh terbesar pada konsentrasi 125 µg/ml sebesar $62,00 \pm 3,0$. Hasil penelitian ini membuktikan bahwa ekstrak etanol daun keladi tikus berpengaruh terhadap induksi apoptosis sel kanker lidah manusia (SP-C1) yang dapat digunakan sebagai pengobatan secara herbal.

Penelitian mengenai apoptosis diawali ketika keladi tikus berikatan dengan fas ligan yang berada di membran sel. Senyawa aktif daun keladi tikus kemudian dibawa ke

sitoplasma dalam sel. Pada saat di sitoplasma kemudian berikatan dengan FADD. FADD ini akan mengaktifkan procaspase 8 menjadi caspase 8. Dari caspase 8 maka akan mengaktifkan dua jalur yaitu intrinsik dan ekstrinsik. Jalur ekstrinsik terjadi dengan aktifnya procaspase 3,6,7 sebagai inisiator, mengaktifkan caspase 3,6,7 yang bertindak sebagai caspase eksekutor sehingga terjadi apoptosis. Pada jalur intrinsik terjadi ketika caspase 8 mengaktifkan Bid menjadi t-bid yang terpotong-potong yang akan mengaktifkan mitokondria untuk mengeluarkan apotosom seperti cictc dan apaf 1 yang akan mengaktifkan caspase 9 yang bekerjasama dengan caspase 3,6,7 sebagai caspase eksekutor yang akan menyebabkan terjadinya apoptosis.⁹

Penelitian sebelumnya dengan tanaman *Typhonium flagelliforme* yang sama juga menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun keladi tikus (*Typhonium flagelliforme*) efektif menghambat proliferasi sel kanker lidah berpengaruh manusia (SP-C1). Potensi hambatan tertinggi terjadi pada konsentrasi 125 µg/ml.¹⁰ Penelitian daun keladi tikus juga berefek sebagai antioksidan yang berpotensi dalam menyembuhkan penyakit kanker. .¹¹

Kesimpulan

Ekstrak etanol daun keladi tikus mempunyai kemampuan menginduksi apoptosis sel kanker lidah manusia SP-C1.

Saran

3. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut aktifitas antikanker ekstrak etanol daun keladi tikus terhadap sel SP-C1 secara *in vivo* pada hewan coba sebelum dilakukan aplikasi klinis pada manusia.
4. Penelitian lebih lanjut mengenai pengaruh ekstrak etanol daun keladi tikus terhadap sel kanker rongga mulut ditempat lain.

Daftar Pustaka

1. Sudiono, J. *Pemeriksaan Patologi untuk Diagnosis Neoplasma Mulut*. Jakarta: EGC. 2008.
2. Sudewo, B. *Tanaman Obat Populer Penggempur Aneka Penyakit*. Jakarta: Agromedia Pustaka. 2007.
3. Mangan, Y. *Solusi Sehat Mencegah dan Mengatasi Kanker*. Jakarta: PT. AgroMedia Pustaka. 2009. h. 44-45
4. Mudahar, H., Widowati, L., Sundari, D. Uji Aktivitas Ekstrak Etanol 50% Umbi Keladi Tikus (*Typhonium flagelliforme*) terhadap Sel Kanker Payudara (MCF-7 Cell Line) secara In Vitro. Puslitbang Biomedis dan Farmasi, Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan. 2006.
5. Mackie, J.T., Atshaves, B., Payne, H.R., McIntosh, A., Schroeder, F., Kier, B. (2009) Phytol-induced Hepatotoxicity in Mice. *Toxicology Pathologic*, 008:1-8
6. Choon, S.L., Mas, R., Nair. N.K., Majid, M.I.A., Mansor., Navaratnam. Typhonium flagelliforme Inhibits Cancer Cell Growth In Vitro and Induces Apoptosis: An Evaluation by The Bioactivity Guided Approach. *Journal of Entopharmacology* 2008. 118: 14-20.
7. Price, SA & Wilson, L.M. *Patofisiologi: Konsep Klinis Proses-Proses penyakit*. Edisi 6. Jakarta: EGC. 2005.
8. Supriatno. liganukleotid sphase kinase-associated protein 2(SKP2) anti sense menginduksi hambatan proliferasi dan peningkatan aktivitas apoptosis pada sel kanker leher dan kepala. *Maj.ked gigi*. Bag.oral medicine. Fakultas Kedokteran Gigi. UGM. 2007.
9. Supriatno, & Yuletnawati, S. Aktivitas antikanker cepharantine pada kanker lidah manusia in vitro (tinjauan proliferasi, invasi dan metastasis sel). *Maj. Ked. Gi*, 2006. 13(2): 141-145.
10. Harhari, KPY., Supriatno, Medawati, A. Daya Hambat Ekstrak Etanol Daun Keladi Tikus (*Typhonium flagelliforme*. Lodd.) Terhadap Proliferasi Sel Kanker Lidah Manusia (SP-C1) Secara In Vitro, *Jurnal Mutiara Medika*, Vol.11 Nomor 1, Januari 2011, Hlm. 14-18
11. Mohan, S., Abdul, A.B., Wahab, S.I.A., Al-Zubairi, A.S., Elhassan, M.M., & Yousif, M. Investigations of Antioxidant and Antibacterial Activities of *Typhonium flagelliforme* (Lodd.) Blume Leaves. *Research Journal of Pharmacology*, 2 (4), 2008. pp. 47-5,