

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang Masalah

Indonesia merupakan salah satu negara dengan kekayaan hayati terbesar di dunia yang memiliki lebih dari 30.000 spesies tanaman tingkat tinggi. Hingga saat ini, tercatat 7.000 spesies tanaman telah diketahui khasiatnya namun kurang dari 300 tanaman yang digunakan sebagai bahan baku industri farmasi secara teratur. Sekitar 1.000 jenis tanaman telah diidentifikasi dari aspek botani sistematik tumbuhan dengan baik. Dikutip oleh Saifudin, Viesa, dan Hilwan (2011) dari *World Health Organisation* (WHO) pada tahun 2008 mencatat bahwa 68% penduduk dunia masih menggantungkan sistem pengobatan tradisional yang mayoritas melibatkan tumbuhan untuk penyembuhan penyakit bahkan sekitar 80% penduduk dunia menggunakan obat herbal untuk mendukung kesehatan mereka, yang diyakini penggunaan obat herbal tersebut masih akan terus digunakan untuk saat ini dan saat yang akan datang. Fakta – fakta menunjukkan bahwa tumbuhan obat memiliki arti penting yakni mendukung kehidupan maupun potensi perdagangan.

Salah satu tanaman obat yang sering digunakan masyarakat untuk mengobati penyakit adalah Senggugu (*Clerodendron serratum* L.). Tanaman ini tumbuh liar di tempat terbuka atau agak terlindung, yang bisa ditemukan di hutan sekunder, padang alang-alang, tepi jalan, dan sering juga ditanam di pekarangan rumah (Ipteknet, 2005). Senggugu merupakan tanaman yang hampir semua bagian tanamannya bisa digunakan untuk mengobati penyakit. Secara tradisional daun tanaman ini digunakan untuk mengobati batuk dan batang atau akar

digunakan untuk mengobati asma, bronkitis, kolera, sakit mata, demam, malaria, rematik, gigitan ular, maag, dan TBC (tuberkulosis) (Vidya *et al.*, 2007).

Berdasarkan pada studi literatur yang dilakukan diketahui tanaman Senggugu memiliki potensi farmakologi sebagai anti inflamasi (Narayanan *et al.*, 1999), antioksidan (Bhujbal *et al.*, 2009), hepatoprotektif (Vidya *et al.*, 2007), antifertilitas (Julaeha *et al.*, 2006) serta antikanker (Zalke *et al.*, 2010).

Penelitian mengenai pengaruh ekstrak daun senggugu (*Clerodendron serratum* L. Moon) terhadap kesuburan spermatozoa tikus putih (*Rattus novergicus*) memberikan hasil bahwa penambahan ekstrak metanol, fraksi *n*-heksan, fraksi etil asetat, dan fraksi air daun senggugu (*Clerodendron serratum*, Verbenaceae) pada takaran 0,25 µg/µL

secara *in vitro*, berpengaruh terhadap kesuburan spermatozoa tikus putih (*Rattus novergicus*). Keempat sampel dapat menurunkan motilitas dan viabilitas, serta menaikkan abnormalitas spermatozoa (Julaeha *et al.*, 2006).

Penelitian antikanker pada daun senggugu ini dilakukan dengan menggunakan ekstrak air senggugu. Ekstrak air dan etanol dari *Clerodendron serratum* Spreng terbukti menghambat pertumbuhan sel limfoma pada mencit. Penghambatan pertumbuhan sel kanker ini ditandai dengan parameter perhitungan sel darah, berat/volume sel tumor serta histopatologi dari sel tumor. Potensi antikanker yang paling kuat ditunjukkan oleh ekstrak air dengan dosis 300 mg/kg/hari (Nagdeva, Katiyar, and Singh, 2012).

Untuk aktivitas analgesik ekstrak etanol daun *Clerodendrum serratum* L. dievaluasi dengan menggunakan alat “Tail Flick

Analgesiometer" yaitu dengan mengukur waktu reaksi sebagai respon nyeri akibat rangsang termal pada ekor tikus (temperatur 70°C) dan tes menggeliat dengan melihat kepekaan hewan coba setelah diinjeksi dengan asam asetat. Hewan coba diberikan ekstrak etanol daun senggugu dengan dosis 250 mg/kg dan 500 mg/kg dan hasil perlakuan yang didapatkan dibandingkan dengan sodium diklofenak 10 mg/kg. Pemberian dosis 250 mg/kg dan 500 mg/kg menunjukkan proteksi rasa sakit pada hewan coba sebesar 25,27% (pada *tail flick test*) dan 32,74% (tes menggeliat) (Saha *et al.*, 2012).

Kanker adalah suatu penyakit yang menduduki peringkat tertinggi sebagai penyebab kematian di dunia, khususnya di negara-negara berkembang (Anderson *et al.*, 1991). Penyakit ini ditandai dengan pertumbuhan sel yang tidak terkendali serta kemampuan sel-sel tersebut untuk menyerang jaringan biologis lainnya, baik dengan pertumbuhan langsung pada jaringan yang bersebelahan (invasi) atau dengan migrasi ke tempat yang jauh (metastasis) di dalam tubuh (Meiyanto *et al.*, 2006). Pengobatan kanker yang ada seperti pembedahan, radioterapi, dan kemoterapi. Pengobatan ini dilakukan untuk membunuh sel-sel kanker, namun memiliki kelemahan dan menimbulkan efek samping (Sukardiman, Abdul, dan Fatma, 2004; Moeljopawiro *et al.*, 2007). Efek samping yang timbul salah satunya adalah kerontokan pada rambut dan kulit menjadi hitam (Jiang *et al.*, 2004). Dari berbagai efek samping yang ditimbulkan oleh pengobatan kanker tersebut, mengakibatkan masyarakat banyak beralih ke pengobatan tradisonal untuk mengobati penyakit kanker. Pengobatan ini dipilih karena diyakini bahwa tanaman tersebut memiliki senyawa sebagai anti kanker.

Senyawa bioaktif pada tumbuhan pada umumnya bersifat toksik pada dosis tinggi oleh karena itu daya bunuh *in vivo* dari senyawa terhadap organisme hewan dapat digunakan untuk menapis ekstrak tumbuhan yang mempunyai bioaktivitas sebagai antikanker. Golongan metabolit sekunder yang dapat digunakan sebagai antikanker salah satunya adalah alkaloid. Alkaloid merupakan kelompok terbesar dari metabolit sekunder yang memiliki atom nitrogen. Sebagian besar atom nitrogen merupakan bagian dari cincin heterosiklik (Lenny, 2006). Salah satu isolasi alkaloid yang berpotensi sebagai antikanker adalah vinblastin, vinkristin dari tanaman tampak dara (*Vinca rosea*) (de Padua, Banyapraphatsara, and Lemmens, 1999). Senyawa antikanker ini menekan atau menghambat pembelahan sel dengan membekukan protein mikrotubular, terutama pada metafase (Alexandrova *et al.*, 2000; de Padua, Banyapraphatsara, and Lemmens, 1999).

Salah satu contoh uji toksisitas yang umumnya dilakukan adalah metode *Brine shrimp lethality test* (BSLT) (Meyer *et al.*, 1982). BSLT dilakukan untuk memprediksi toksisitas suatu bahan senyawa dan digunakan untuk uji pendahuluan senyawa metabolit sekunder dari tumbuhan yang berkhasiat sebagai antikanker atau antitumor sebelum melangkah kepada uji *in vitro* dengan menggunakan sel – sel kanker. Metode ini juga digunakan untuk mendeteksi toksin fungal, logam berat, toksin sianobakteria, dan aktivitas pestisida.

Uji toksisitas ini dilakukan dan menggunakan larva *Artemia salina* sebagai hewan coba. Parameter yang digunakan untuk uji toksisitas ini adalah jumlah kematian larva *Artemia salina* Leach yang disebabkan karena pengaruh ekstrak atau senyawa bahan alam pada konsentrasi yang diberikan (McLaughlin, 1991; Silva *et al.*, 2007),

yaitu nilai LC_{50} . Nilai LC_{50} (*Lethal Concentration 50%*) yaitu nilai yang menunjukkan zat toksik yang dapat mengakibatkan kematian larva udang sampai 50% selama 24 jam. LC_{50} ditentukan dengan menggunakan persamaan garis regresi linear antara log konsentrasi dan mortalitas (kematian). Jika nilai LC_{50} masing-masing ekstrak atau senyawa yang diuji kurang dari 1000 $\mu\text{g/mL}$ maka dianggap menunjukkan adanya aktivitas biologik, sehingga pengujian ini dapat digunakan sebagai skrining awal terhadap senyawa bioaktif yang diduga berkhasiat sebagai antikanker (Sunarni, Iskamto, dan Suhartinah, 2003; Anderson *et al.*, 1991; Sukardiman, Abdul, dan Fatma 2004). Metode ini memiliki keuntungan antara lain cepat, murah, sederhana (tidak memerlukan teknik aseptik), untuk melakukannya tidak memerlukan peralatan khusus dan membutuhkan sampel yang relatif sedikit.

Pada penelitian ini akan dilakukan uji sitotoksisitas dengan menggunakan metode BSLT pada senyawa alkaloid hasil fraksinasi ekstrak etanol daun senggugu. Pemilihan pelarut etanol didasarkan pada sifat pelarut yang universal yang dapat melarutkan hampir semua senyawa metabolit sekunder dengan bobot molekul rendah (Harborne, 1998), tidak mudah ditumbuhi kapang dan jamur, netral dan absorpsinya baik (Djajanegara, 2008). Metode ekstraksi yang digunakan adalah metode ekstraksi dingin yaitu maserasi. Pemilihan metode ini dikarenakan metode ini cepat, tidak membutuhkan banyak pelarut dan merupakan metode yang cocok bagi metabolit sekunder yang tidak tahan panas. Fraksinasi senyawa alkaloid dilakukan dengan metode ekstraksi cair-cair dengan menggunakan pelarut kloroform dalam suasana basa. Pemeriksaan sitotoksisitas dilakukan dengan metode *Brine shrimp lethality test* (BSLT) dan menggunakan *nauplii*

Artemia salina Leach. Metode ini merupakan awal pencarian senyawa anti kanker karena hasil uji toksisitas memiliki korelasi positif dengan aktivitas sitotoksitas anti kanker (Ayo, Amupitan, and Zhao, 2007; Carballo *et al.*, 2002; Krishnaraju *et al.*, 2005; Lellau, and Liebezeit, 2003; Meyer *et al.*, 1982; Pisutthanan *et al.*, 2004). Penggunaan metode *Brine shrimp lethality test* (BSLT) memiliki beberapa keuntungan dibandingkan dengan metode yang lain yaitu mudah dikerjakan, murah, cepat, dan cukup akurat, tidak memerlukan kondisi aseptis dan dapat dipercaya (Dachrinus, Oktima, and Stanias, 2005; Fajarningsih *et al.*, 2006). Data yang akan didapat akan dianalisis dengan program analisis probit SPSS 17.0 untuk mencari hubungan antara konsentrasi larutan uji dan respon kematian *nauplii Artemia salina* Leach (Silva *et al.*, 2007) dan menentukan nilai LC₅₀ (*Lethal Concentration 50*). Ekstrak yang diuji dapat dikatakan memiliki efek toksik apabila nilai LC₅₀ kurang dari 1000 µg/ml (Meyer, 1982).

1.2 Perumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang tersebut, dapat dirumuskan masalah sebagai berikut:

1. Apakah ekstrak etanol dan senyawa alkaloid hasil fraksinasi ekstrak etanol daun senggugu memiliki potensi sitotoksitas terhadap *nauplii Artemia salina* Leach?
2. Berapakah nilai LC₅₀ dari ekstrak etanol dan senyawa alkaloid hasil fraksinasi ekstrak etanol daun senggugu?
3. Apakah senyawa alkaloid hasil fraksinasi dari ekstrak etanol daun senggugu lebih sitotoksik dibandingkan dengan ekstrak etanolnya (LC₅₀ fraksi ekstrak etanol daun senggugu < LC₅₀ ekstrak etanol daun senggugu)?

1.3 Tujuan

Tujuan pada penelitian adalah:

1. Untuk mengetahui apakah ekstrak etanol dan senyawa alkaloid hasil fraksinasi ekstrak etanol daun senggugu memiliki potensi sitotoksitas terhadap *Artemia salina* Leach.
2. Untuk mengetahui berapa nilai LC_{50} dari ekstrak etanol dan senyawa hasil fraksinasi ekstrak etanol daun senggugu.
3. Untuk mengetahui apakah senyawa alkaloid hasil fraksinasi dari ekstrak etanol daun senggugu lebih sitotoksik dibandingkan dengan ekstrak etanolnya (LC_{50} fraksi ekstrak etanol daun senggugu < LC_{50} ekstrak etanol daun senggugu).

1.4 Manfaat Hasil

Hasil penelitian diharapkan dapat dijadikan bahan informasi tentang potensi sitotoksitas ekstrak etanol dan senyawa alkaloid hasil fraksinasi ekstrak etanol daun senggugu sebagai salah satu tanaman yang dapat dan digunakan sebagai sumber pengobatan anti kanker oleh masyarakat.