

**UJI SITOTOKSIK EKSTRAK ETANOL KULTUR AKAR
CEPLUKAN (*Physalis angulata* L.) YANG DITUMBUHKAN
PADA MEDIA MURASHIGE-SKOOG DENGAN
PENGURANGAN KONSENTRASI FOSFAT
TERHADAP SEL MYELOMA**

SKRIPSI



Oleh:

**KHOLILUR ROHMAN
K100040032**

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH SURAKARTA
SURAKARTA
2008**

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang Masalah

Angka kematian yang disebabkan oleh kanker sangat tinggi, tidak hanya di Indonesia melainkan di berbagai negara di dunia (Anonim, 2007). Data dari NCI (*National Cancer Institute*) menyatakan bahwa pada tahun 2008, angka kejadian kanker di Amerika Serikat sebesar 1.437.180 dan angka kematiannya sebesar 565.650 (Jemal *et al.*, 2008), sedangkan menurut Menteri Kesehatan Indonesia, Siti Fadilah Supari, pada tahun 2005 jumlah penderita kanker di Indonesia mencapai 6 % dari populasi (Siswono, 2005).

Pengobatan kanker seperti pemberian obat antikanker, kemoterapi, dan operasi tergolong sangat mahal. Selain itu, jarang pasien yang berhasil bebas dari kanker meskipun sudah melakukan berbagai usaha pengobatan medis. Di tengah-tengah keputusan itu, banyak yang beralih ke obat tradisional (Kardinan dan Taryono, 2004).

Beberapa penelitian telah membuktikan bahwa tanaman ceplukan (genus *Physalis*) memiliki efek sitotoksik terhadap beberapa sel kanker manusia yaitu HA22T, HeLa, KB, Colo 205, dan Calu. Efek tersebut diperoleh dari ekstrak etanol tanaman utuh (*whole plant*) *Physalis angulata* L. (Chiang *et al.*, 1992). Pada hasil penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa ekstrak etanolik *Physalis angulata* L. mempunyai efek sitotoksik terhadap sel Myeloma dengan IC_{50} 70,92 μ g/ml (Diah, 2007).

Tanaman ceplukan ini tergolong liar, herba, tahunan, dan termasuk dalam famili Solanaceae (Anonim, 2006). Penggunaan tanaman liar mempunyai banyak kendala dan variabilitas yang tidak bisa dikendalikan seperti asal tanaman, umur, tempat tumbuh (Gunawan, 2004), waktu panen, faktor lingkungan, dan kelembaban sehingga berpengaruh pada kandungan senyawa aktifnya (Santoso dan Nursandi, 2004). Oleh karena itu, budidaya alternatif diperlukan untuk menghasilkan senyawa-senyawa metabolit sekunder yang dapat mengatasi keterbatasan tersebut. Produksi metabolit sekunder dimungkinkan dengan teknik kultur jaringan tanaman misalnya kultur kalus (Indrayanto, 1988), kultur sel tanaman, kultur akar, dan kultur tunas (Rao and Ravishankar, 2002).

Beberapa cara untuk meningkatkan produksi metabolit sekunder pada kultur jaringan tanaman adalah dengan melakukan modifikasi media seperti peningkatan konsentrasi sukrosa, pengurangan konsentrasi fosfat, pengurangan konsentrasi nitrat (Rao and Ravishankar, 2002), dan elisitasi (Mulabagal and Sheng, 2003). Pada beberapa penelitian menunjukkan bahwa pengurangan konsentrasi fosfat dapat menstimulasi peningkatan produksi *key enzyme*, produksi ajmalisin dan fenolik pada tanaman tapak dara (*Catharanthus roseus sp.*), *caffeoyl putrescines* pada *Nicotiana tabacum*, dan alkaloid harman pada *Peganum harmala* (Rao and Ravishankar, 2002). Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui pengaruh pengurangan konsentrasi fosfat terhadap produksi metabolit sekunder melalui kultur akar ceplukan (*Physalis angulata* L.) yang diekstraksi dengan etanol kemudian diuji efek sitotoksiknya terhadap sel Myeloma dengan metode MTT.

B. Perumusan Masalah

Apakah ekstrak etanol kultur akar ceplukan (*Physalis angulata* L.) yang ditumbuhkan pada media Murashige-Skoog dengan pengurangan konsentrasi fosfat mempunyai efek sitotoksik yang lebih poten dibandingkan dengan ekstrak etanol tanaman utuhnya dan senyawa kimia apa yang terkandung di dalamnya?

C. Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek sitotoksik ekstrak etanol kultur akar ceplukan (*Physalis angulata* L.) yang ditumbuhkan pada media Murashige-Skoog dengan pengurangan konsentrasi fosfat dan mengetahui senyawa kimia yang terkandung di dalamnya.

D. Tinjauan Pustaka

1. Tanaman ceplukan (*Physalis angulata* L.)

Ceplukan merupakan tanaman herba tahunan yang tumbuh di daerah tropis termasuk Afrika, Asia, dan Amerika (Anonim^a, 2005). Tanaman ceplukan (*Physalis angulata* L.) memiliki klasifikasi lengkap sebagai berikut:

Divisio : Spermatophyta
Sub divisio : Angiospermae
Classis : Dicotyledoneae
Sub classis : Sympetalae
Familia : Tubiflorae (Solanales, Personatae)
Ordo : Solanaceae

Genus : *Physalis*

Species : *Physalis angulata* L.

(Van Steenis, 1997)

Physalis angulata L. dikenal dengan nama: (Ambon) daun boba, (Maluku) daun kopo-kopi, daun loto-loto, (Sumatera Timur) leletop, (Sunda) cecendet, cecendetan, cecendet kunir, cecenet, cecenetan, cicendet, cicendetan, cicenet, cicindit, (Jawa) ceplukan, ceplukan sapi, ceplokan, ciplukan, ceplukan cina, ciciplukan, (Madura) yoryoran, (Bali) angket, kopok-kopokan, padang rase, ciciplukan (Heyne, 1987).

Tanaman ceplukan memiliki ciri-ciri berupa herba 1 tahun tegak, tinggi 0,1-1 m. Bagian yang hijau berambut pendek atau boleh dikatakan gundul. Batang berusuk bersegi tajam, berongga. Helaiian daun bulat telur memanjang, bentuk lanset, dengan ujung runcing, bertepi rata atau tidak, 5-15 kali 2,5-10,5 cm. Tangkai bunga tegak dengan ujung yang mengangguk, langsing, lembayung, 8-23 mm, kemudian tumbuh sampai 3 cm. Kelopak bercelah 5, berbagi kurang dari separo jalan, dengan taju-taju bersudut 3, runcing, hijau, dengan rusuk yang lembayung. Mahkota berbentuk lonceng lebar, tinggi 7-9 mm, kuning muda dengan pangkal hijau, tepian berlekuk 5 tidak dalam, dalam leher dengan noda-noda coklat atau kuning coklat, di bawah tiap noda terdapat kelompokan rambut-rambut pendek rapat yang berbentuk huruf V (Van Steenis, 1997). Buahnya ditutupi oleh kelopak dan dapat dimakan (Heyne, 1987).

Studi fitokimia terhadap tanaman ceplukan dimaksudkan untuk mengetahui berbagai tipe aktivitas biologinya, dan berbagai kandungan kimianya termasuk

flavonoid, alkaloid, dan berbagai macam steroid (Anonim^a, 2005). Buahnya mengandung 0,8 % asam sitrat, vitamin A dan P, kira-kira 30 mg vitamin C dan 2,8 mg vitamin B12 per 100 g, juga mengandung banyak pektin (Anonim^b, 2005).

Tanaman ceplukan di Amerika Utara dan Amerika Selatan digunakan untuk pengobatan penyakit akibat infeksi bakteri dan virus, serta untuk terapi kanker dan leukemia (Anonim^a, 2005), asma, masalah urinari, reumatik, dan tumor (Silva *et al.*, 2005). Di beberapa negara, daunnya digunakan sebagai obat, dan di Meksiko, rebusan dari kelopak bunga digunakan untuk obat kencing manis (Anonim^b.2005).

2. Kultur jaringan tanaman

Kultur jaringan tanaman adalah salah satu pendekatan budidaya pertanian yang sudah berpijak pada konsep *how to create* yang melengkapi serta memungkinkan peningkatan efektivitas dan produktivitas cara-cara bertanam tradisional dan konvensional (Santoso dan Nursandi, 2004). Kultur jaringan tanaman terdiri dari sejumlah teknik untuk menumbuhkan organ, jaringan, dan sel tanaman (Wetter dan Constabel, 1991). Kultur ini didasarkan pada pernyataan mengenai teori sel oleh Schwann (1839), di mana setiap bagian sel dari organisme memiliki sifat totipotensi, yaitu kemampuan berkembang setiap sel dengan cara regenerasi menjadi organisme utuh bila dilengkapi dengan kondisi lingkungan yang sesuai (Dodds and Roberts, 1995).

Beberapa hal yang mendukung dan berpengaruh pada teknik kultur jaringan tanaman adalah:

a. Media

Komposisi tiap jenis media berbeda-beda tergantung jenis eksplannya. Media Murashige-Skoog (MS) digunakan untuk hampir semua tanaman, terutama *herbaceus*. Media ini mempunyai konsentrasi garam-garam mineral yang tinggi dan senyawa nitrogen (N) dalam bentuk ion nitrat (NO_3^-) atau ion amonium (NH_4^+) (Sriyanti dan Wijayani, 1994). Komposisi media MS dapat dilihat pada Lampiran 1. Komponen semua media kultur jaringan tanaman meliputi makronutrien, mikronutrien, zat besi, vitamin-vitamin, sumber karbon, dan zat pengatur tumbuh. Asam amino dan nitrogen-nitrogen lainnya dapat ditambahkan dalam campuran vitamin (Dodds *and* Roberts, 1995).

1) Makronutrien

Kultur jaringan tanaman memerlukan suplai tetap komponen-komponen anorganik. Di samping karbon, hidrogen, dan oksigen, serta komponen-komponen esensial dibutuhkan dalam jumlah besar sebagai komponen-komponen makronutrien. Komponen makronutrien ini meliputi nitrogen (N), fosfor (P), potasium (K), kalsium (Ca), magnesium (Mg), dan sulfur (S). Nitrogen ditambahkan dalam jumlah besar dalam bentuk ion nitrat (NO_3^-) atau ion amonium (NH_4^+), atau kombinasi keduanya. Mg dan S diberikan dalam bentuk sulfat ($\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$). Sulfur bisa juga diberikan dalam bentuk Na_2SO_4 . Fosfat ditambahkan dalam bentuk $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$, KH_2PO_4 , atau $(\text{NH}_4)\text{H}_2\text{PO}_4$ (Dodds *and* Roberts, 1995). Konsentrasi fosfat dalam media memiliki efek yang besar pada produksi metabolit sekunder dalam kultur sel tanaman. Konsentrasi fosfat yang lebih tinggi dapat meningkatkan pertumbuhan sel tanaman tetapi memiliki pengaruh yang negatif pada produksi metabolit sekunder

(Rao *and* Ravishankar, 2002). Potasium diberikan dalam bentuk KCl, KNO₃, atau KH₂PO₄. Sedangkan kalsium diberikan dalam bentuk CaCl₂.2H₂O, Ca(NO₃)₂.4H₂O, atau bentuk garam anhidratnya (Dodds *and* Roberts, 1995).

Peranan unsur N pada tanaman terutama sebagai penyusun ikatan N yaitu protein, basa organik, enzim, vitamin, klorofil, dan lain-lain. Unsur P berperan dalam pembentukan senyawa penting, aktivator senyawa-senyawa organik (Santoso dan Nursandi, 2004), dan pembentukan karbohidrat (Sriyanti dan Wijayani, 1994). Unsur S berperan sebagai penyusun senyawa-senyawa penting seperti ester asam amino, enzim, dan vitamin B1. Unsur K berperan membantu meningkatkan aktivitas enzim, sebagai pembawa energi (Santoso dan Nursandi, 2004) dan memperkuat tubuh tanaman (Sriyanti dan Wijayani, 1994). Unsur Ca berperan sebagai aktivator enzim tertentu (Santoso dan Nursandi, 2004). Sedangkan unsur Mg berperan sebagai bahan mentah untuk pembentukan sejumlah protein (Sriyanti dan Wijayani, 1994).

2) Mikronutrien

Komponen-komponen mineral yang penting dibutuhkan oleh semua sel tanaman. Tetapi karena dibutuhkan dalam jumlah kecil maka disebut sebagai komponen mikronutrien. Komponen mikronutrien ini berupa zat-zat besi seperti besi (Fe), mangan (Mn), seng (Zn), boron (B), molibdenum (Mo), tembaga (Cu), dan klorin (Cl) (Dodds *and* Roberts, 1995).

Unsur Fe berfungsi untuk menyangga kestabilan pH media selama digunakan untuk menumbuhkan jaringan tanaman, untuk pernafasan, dan pembentukan hijau daun (Sriyanti dan Wijayani, 1994). Unsur Mn berperan sebagai aktivator enzim,

pembentuk klorofil, pembentuk vitamin C, dan aktif dalam fotosintesis serta metabolisme protein. Unsur Zn berperan sebagai aktivator enzim, penyusun klorofil, dan memacu pembentukan zat tumbuh. Unsur Cu berperan sebagai bagian dari enzim, membantu proses fotosintesis, dan reduksi nitrit. Unsur Cl berperan pada aktivitas enzim. Unsur B berperan sebagai penyusun ikatan-ikatan penting untuk metabolisme karbohidrat, ikut menyusun struktur dinding sel, mengatur penyerapan ion ke dalam sel, dan sebagai aktivator dan inaktivator bagi zat tumbuh. Sedangkan unsur Mo berperan sebagai bagian dari enzim reduktase, ikut dalam metabolisme P, dan sintesis asam askorbat (Santoso dan Nursandi, 2004).

3) Sumber karbon (energi)

Sumber karbon (energi) yang dianggap standar adalah sukrosa atau glukosa (Santoso dan Nursandi, 2004). Sukrosa atau glukosa 2-4 % merupakan sumber karbon yang paling cocok (Wetter *and* Constabel, 1991).

4) Vitamin

Tiamin merupakan satu-satunya vitamin yang penting. Piridoksin, asam nikotinat, dan mio-inositol seringkali dapat meningkatkan pertumbuhan sel (Wetter *and* Constabel, 1991).

5) Zat pengatur tumbuh

Zat pengatur tumbuh yang sering ditambahkan ke dalam media kultur adalah auksin dan sitokinin (Dixon *and* Gonzales, 1994). Hormon sering ditambahkan sebagai zat pengatur tumbuh yang bersifat alami, sedangkan zat pengatur tumbuh hasil sintesis berupa 2,4-D dan kinetin (Dodds *and* Roberts, 1995).

Beberapa zat yang sering digunakan sebagai pengatur tumbuh adalah:

a) Auksin

Auksin mempunyai efek membesarkan sel, hal tersebut berawal dari meningkatnya isi sel tetapi tidak diimbangi dengan peningkatan dinding sel sehingga terjadi tekanan turgor. Hal ini akan mendorong kerja enzim selulase pada dinding primer hingga dinding elastis dan sel makin membesar. Adapun zat pengatur tumbuh yang digolongkan sebagai auksin yaitu asam indolasetat (IAA), asam α -naftalenasetat (NAA), asam 2,4-diklorofenoksiasetat (2,4-D), asam 2-metil-4-klorofenoksiasetat (MCPA), asam 2-naftalosiasetat (NOA), asam 4-klorofenoksiasetat (4-CPA), asam p-klorofenoksiasetat (PCPA), asam 2,4,5-triklorofenoksiasetat (2,4,5-T), asam 3,6-dikloroanisik (dikamba), dan asam 4-amino-3,5,6-trikloropikolinik (pikloram) (Santoso dan Nursandi, 2004).

b) Sitokinin

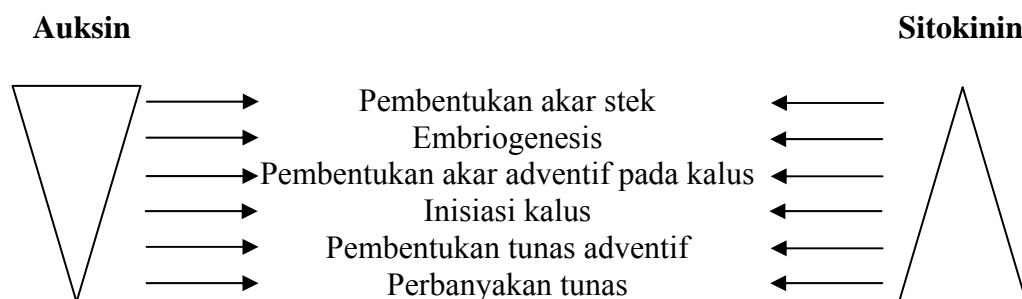
Sitokinin berperan dalam memacu pembentangan dan pembelahan sel, mengarahkan transport zat hara, mendorong proses morfogenesis, dan pertunasan. Dalam kegiatan kultur jaringan, sitokinin telah terbukti dapat menstimulir terjadinya pembelahan sel, proliferasi kalus, pembentukan tunas, mendorong proliferasi meristem ujung, menghambat pembentukan akar, dan mendorong pembentukan klorofil pada kalus. Sitokinin sintetik yang sering digunakan dalam kegiatan kultur jaringan adalah kinetin (6-furfurilaminopurin), dan BAP atau BA (6-benzilaminopurin/ 6-benziladenin). Kinetin merupakan senyawa yang sangat aktif yang terbentuk dari hasil penguraian sebagian DNA tua sperma ikan hering atau

DNA yang diautoklaf yang menyebabkan terus tumbuhnya kalus tembakau (Santoso dan Nursandi, 2004).

c) Gibberilin

Gibberilin (GA) dapat mempengaruhi pertumbuhan dan perkembangan pada berbagai hal seperti mempengaruhi pemanjangan batang atau ruas batang, mendorong pembungaan, induksi buah, dan tumbuhnya mata tunas (Santoso dan Nursandi, 2004).

George dan Sherrington (1984) mengatakan bahwa hal yang menentukan arah pertumbuhan jaringan tanaman adalah penimbangan kadar antar kedua zat pengatur tumbuh tersebut, seperti terlihat pada Gambar 1 berikut.



Gambar 1. Pengaruh Penimbangan Kadar Auksin dan Sitokinin terhadap Arah Pertumbuhan Jaringan Tanaman pada Kultur Jaringan (George and Sherrington, 1984)

b. Sterilisasi

Pada kultur jaringan tanaman, khususnya untuk organ-organ yang digunakan sebagai sumber jaringan eksplan harus bebas dari kontaminasi alami (George and Sherrington, 1984) karena sumber eksplan sangat rawan terhadap kontaminasi dalam mensintesis metabolit sekunder (Dixon and Gonzales, 1994). Oleh karena itu

perlu dilakukan sterilisasi untuk menjaga kondisi aseptis tersebut (George *and* Sherrington, 1984).

Metode sterilisasi yang sering digunakan dalam pengerjaan kultur jaringan tanaman adalah:

1) Pemanasan kering

Metode ini digunakan untuk alat gelas, alat logam, atau alat lain yang tidak hangus pada pemanasan tinggi. Metode ini membutuhkan suhu 160-170 °C dengan waktu kurang dari 2 jam (Ansel, 1989).

2) Pemanasan basah

Pemanasan basah digunakan untuk sterilisasi larutan media dan alat-alat yang tidak tahan oleh pemanasan tinggi. Alat yang digunakan adalah autoklaf dengan suhu 121 °C dan tekanan 1 atm selama 20-30 menit (Indrayanto, 1988).

3) Ultrafiltrasi

Beberapa komponen media misalnya vitamin dan zat pengatur tumbuh tidak stabil dengan pemanasan. Oleh karena itu disterilkan dengan ultrafiltrasi. Diameter lubang dari filter untuk sterilisasi pada metode ini adalah 0,22 mikron (Indrayanto, 1988). Membran penyaring ini bekerja sebagai sekat yang menahan semua partikel dan mikroba yang lebih besar dari ukuran pori pada permukaannya (Ansel, 1989).

4) Sterilisasi kimia

Permukaan area bekerja biasanya disterilkan dengan etanol 70 % atau isopropanol 70 %. Etanol juga digunakan untuk mensterilkan alat-alat yang sebelum digunakan, yang kemudian dipijarkan di atas lampu spiritus. Bahan tanaman yang

akan ditanam juga bisa disterilkan dengan metode ini, yaitu dengan menggunakan 0,5 % NaOCl atau larutan kalsium hipoklorit (Indrayanto, 1988).

c. Eksplan

Eksplan adalah suatu organ atau bagian jaringan dari tanaman yang digunakan untuk memulai kultur jaringan (Dodds *and* Roberts, 1995). Eksplan tanaman yang sangat potensial dalam pertumbuhannya adalah organ-organ meristem (George *and* Sherrington, 1984) yaitu organ yang memiliki kemampuan untuk terus membelah atau tumbuh (Northington *and* Schneider, 1996), karena pembelahan serta penggandaan sel terjadi hanya di beberapa bagian khusus pada tumbuhan yaitu di tempat jaringan yang bersifat embrionik dan pada sel yang tetap mempertahankan kemampuan untuk membelah (Hidayat, 1995). Bagian meristem tumbuhan ini diantaranya terdapat pada daun, bunga, buah, dan akar (George *and* Sherrington, 1984).

Umur fisiologis eksplan berhubungan dengan juvenilitas eksplan, semakin muda daur fisiologisnya keberhasilan kultur semakin besar, karena eksplan mudah untuk diinduksi membentuk kalus atau organ lain (Santoso dan Nursandi, 2004).

3. Ekstraksi dengan cara maserasi

Ekstrak adalah sediaan pekat yang diperoleh dengan mengekstraksi zat aktif dari simplisia nabati atau simplisia hewani menggunakan pelarut yang sesuai (Anonim, 1979). Salah satu metode ekstraksi yang sering digunakan di dalam penyarian adalah maserasi (Ansel, 1989).

Maserasi dilakukan dengan cara merendam serbuk simplisia dalam cairan penyari. Cairan penyari yang digunakan dapat berupa air, etanol, air-etanol, atau pelarut lain. Sepuluh bagian simplisia dengan derajat halus yang cocok dimasukkan

ke dalam bejana, lalu dituangi 75 bagian cairan penyari, ditutup dan dibiarkan selama 5 hari terlindung dari cahaya, sambil berulang-ulang diaduk. Setelah 5 hari sari diserakai, ampas diperas. Ampas ditambah cairan penyari secukupnya, diaduk dan diserakai, sampai diperoleh seluruh sari sebanyak 100 bagian. Setelah itu, sari dipekatkan dengan cara diuapkan pada tekanan rendah dan suhu 50 °C hingga konsentrasi yang dikehendaki (Anonim, 1986).

Maserasi merupakan proses yang paling tepat di mana bahan obat yang sudah halus memungkinkan untuk direndam dalam cairan penyari hingga meresap dan melunakkan susunan sel, sehingga zat-zat akan melarut. Proses ini dilakukan dalam bejana bermulut lebar, ditutup rapat dan isinya dikocok berulang-ulang lalu disaring. Proses ini dilakukan pada suhu 15-20 °C selama tiga hari sampai zat-zat yang terkandung dalam bahan obat tersari (Ansel, 1989).

Keuntungan cara penyarian dengan maserasi adalah cara pengerjaan dan peralatan yang digunakan sederhana dan mudah diusahakan. Sedangkan kerugiannya adalah pengerjaannya lama dan penyariannya kurang sempurna (Anonim, 1986).

4. Kanker

Kanker adalah pertumbuhan dan perkembangan sel-sel tubuh yang abnormal, tidak terkontrol, dan tidak terbentuk (Utomo, 2005). Dalam keadaan normal, sel hanya akan membelah diri bila diperlukan seperti pada penggantian sel-sel yang mati atau rusak. Sedangkan sel kanker akan terus tumbuh dan membelah diri meskipun tidak diperlukan. Sehingga terjadi sel-sel baru yang berlebihan yang mempunyai sifat seperti induknya yang sakit yaitu sel-sel tidak mempunyai daya atur (Mulyadi, 1997). Kanker merupakan penyakit yang disebabkan rusaknya mekanisme pengaturan dasar

perilaku sel. Khususnya mekanisme pertumbuhan dan diferensiasi sel yang diatur oleh gen, sehingga faktor genetik diduga kuat sebagai penyebab utama terjadinya kanker (Sukardja, 2000).

Kanker dibedakan menjadi dua yaitu sarkoma dan karsinoma. Sarkoma bersifat mesenchymal misalnya fibrosarkoma, imenosarkoma, osteosarkoma. Sedangkan karsinoma bersifat epitelial sebagai contoh kanker payudara, kanker lambung, kanker uterus, kanker kulit (Mulyadi, 1997).

Sifat sel kanker menurut Franks dan Teich (1998) *cit in* Maliya (2004) adalah:

a. Bentuk dan struktur sel bermacam-macam (*polymorph*)

Adanya perbedaan bentuk dan susunan dengan sel normal asalnya, maka dapat dibuat diagnosis patologi kanker.

b. Tumbuh autonom

Sel kanker itu tumbuh terus tanpa batas (*immortal*), liar, semuanya sendiri terlepas dari kendali pertumbuhan normal sehingga terbentuk suatu tumor (benjolan) yang terpisah dari bagian tubuh normal.

c. Mendesak dan merusak sel-sel normal di sekitarnya

Sel-sel tumor mendesak (ekspansif) sel-sel normal disekitarnya, berubah menjadi kapsul yang membatasi pertumbuhan tumor. Pada tumor jinak, kapsul berupa kapsul sejati yang memisahkan gerombolan sel tumor dengan sel-sel normal, sedang pada tumor ganas berupa kapsul palsu (*pseudokapsul*) sehingga kapsul itu dapat ditembus atau diinfiltrasi oleh sel kanker.

d. Dapat bergerak sendiri (*amoeboid*)

Sel-sel kanker dapat bergerak sendiri seperti amuba dan lepas dari gerombolan sel tumor induknya, masuk di antara sel-sel normal di sekitarnya. Hal ini menimbulkan:

- 1) Infiltrasi atau invasi ke jaringan atau organ di sampingnya.
- 2) Metastase atau anak sebar di kelenjar limfe atau di organ lainnya, melalui penyebaran limfogen maupun secara hematogen yaitu sel kanker masuk ke dalam pembuluh darah dan bersama aliran darah beredar ke seluruh tubuh.

e. Tidak mengenal koordinasi dan batas-batas kewajaran

Ketidakwajaran itu antara lain disebabkan oleh kurangnya daya adhesi dan kohesi, tidak mengenal kontak inhibisi, tidak mengenal tanda posisi, dan tidak mengenal batas kepadatan.

f. Tidak menjalankan fungsinya yang normal

5. Uji sitotoksik

Uji sitotoksisitas merupakan uji sitotoksik secara *in vitro* dengan menggunakan kultur sel yang digunakan dalam evaluasi keamanan obat, kosmetik, zat-zat tambahan makanan dan digunakan untuk mendeteksi adanya aktivitas antineoplastik dari suatu senyawa (Freshney, 1986).

Uji sitotoksik ini merupakan perkembangan metode untuk memprediksi keberadaan obat sitotoksik baru dari bahan alam yang berpotensi sebagai antikanker (Burger, 1970). Adapun dasar dari uji *in vitro* ini antara lain bahwa sistem penetapan aktivitas biologis akan menghasilkan kurva dosis-respon dan kriteria respon

menunjukkan hubungan lurus dengan jumlah sel. Informasi yang diperoleh dari kurva sebenarnya berhubungan dengan efek *in vivo* dari obat yang sama (Freshney, 1986).

Dua metode umum yang digunakan untuk uji sitotoksik adalah metode perhitungan langsung (*direct counting*) dengan menggunakan biru tripan (*tryphan blue*) dan metode MTT (Junedy, 2005).

Uji sitotoksik dapat menggunakan parameter nilai IC_{50} . Nilai IC_{50} menunjukkan nilai konsentrasi yang menghasilkan hambatan pertumbuhan sel sebesar 50 % dari populasi dan menunjukkan potensi ketoksikan suatu senyawa terhadap sel. Nilai ini merupakan patokan untuk melakukan uji pengamatan kinetika sel. Nilai IC_{50} dapat menunjukkan potensi suatu senyawa sebagai sitotoksik. Semakin besar harga IC_{50} maka senyawa tersebut semakin tidak toksik (Melannisa, 2004).

6. Sel myeloma

Myeloma adalah suatu neoplasma yang ditandai dengan adanya proliferasi sel plasma (Robianto, 2004), penggantian sumsum tulang, dan pembentukan paraprotein (Tierney *et al.*, 2003).

Sel Myeloma menghasilkan faktor dengan berat molekul rendah yang secara selektif merangsang osteoklas (faktor pengaktif osteoklas), di mana faktor ini berperan dalam lesi osteolitik maupun osteoporotik. Akibat dari masalah ini adalah terganggunya keseimbangan kalsium (Bellanti, 1993).

Sel Myeloma yang akan digunakan untuk penelitian harus berada dalam satu kondisi pertumbuhan yang eksponensial atau dalam pertumbuhan fase logaritmik. Kondisi ini dapat dicapai apabila sel ditumbuhkan paling tidak 6 hari sebelum

digunakan, tiap hari dilakukan penggantian medium sambil mengencerkan kepadatan sel dengan jalan memindahkan ke dalam *flask* yang lain (Mahardika, 2004).

7. Kromatografi lapis tipis

Kromatografi lapis tipis merupakan metode pemisahan komponen-komponen atas dasar perbedaan adsorpsi atau partisi oleh fase diam di bawah gerakan pelarut pengembangan atau pelarut pengembangan campur. Pemilihan pelarut pengembangan atau pelarut pengembangan campur sangat dipengaruhi oleh macam dan polaritas zat-zat kimia yang dipisahkan (Mulja dan Suharman, 1995).

Fase diam yang umum dan banyak dipakai adalah silika gel yang dicampur dengan CaSO_4 untuk menambah daya lengket partikel silika gel pada pendukung (pelat). Adsorban lain yang banyak digunakan adalah alumina, kieselguhr, celite, serbuk selulosa, serbuk poliamida, kanji, dan sephadex (Mulja dan Suharman, 1995).

Kromatogram pada kromatografi lapis tipis merupakan noda-noda yang terpisah setelah visualisasi dengan cara fisika atau kimia. Visualisasi dengan cara fisika yaitu dengan melihat noda kromatogram yang mengabsorpsi radiasi ultraviolet atau berfluoresensi dengan radiasi ultraviolet pada 254 nm atau 366 nm. Sedangkan visualisasi dengan cara kimia adalah dengan mereaksikan kromatogram dengan pereaksi warna yang memberikan warna atau fluoresensi yang spesifik. Visualisasi dengan cara kimia ini dilakukan dengan cara penyemprotan dengan atomizer atau memberikan uap zat kimia pada kromatogram atau dengan cara pencelupan ke dalam pereaksi penampak warna (Mulja dan Suharman, 1995).

Parameter pada kromatografi lapis tipis adalah *retardation factor* (Rf) atau faktor retensi, merupakan perbandingan jarak yang ditempuh solut dengan jarak yang ditempuh fase gerak. Adapun rumusnya sebagai berikut:

$$Rf = \frac{\text{Jarak yang ditempuh solut (cm)}}{\text{Jarak yang ditempuh fase gerak (cm)}} \quad (1)$$

Harga Rf umumnya lebih kecil dari 1, sedangkan bila dikalikan dengan 100 akan berharga 1-100, sehingga parameter ini dapat digunakan untuk perhitungan kualitatif dalam pengujian sampel dengan kromatografi lapis tipis (Sumarno, 2001).

E. Landasan Teori

Pada penelitian sebelumnya menyatakan bahwa ekstrak etanol ceplukan (*Physalis angulata* L.) mempunyai efek sitotoksik terhadap sel Myeloma dengan IC₅₀ 70,92 µg/ml (Diah, 2007). Pengurangan konsentrasi fosfat pada kultur jaringan tanaman dapat meningkatkan produksi metabolit sekunder (Rao *and* Ravishankar, 2002). Kenaikan metabolit sekunder diharapkan dapat meningkatkan aktivitas biologisnya termasuk aktivitas sitotoksik.

F. Hipotesis

Berdasarkan landasan teori di atas, maka dapat disusun hipotesis yaitu pengurangan konsentrasi fosfat dapat meningkatkan produksi senyawa metabolit sekunder kultur akar ceplukan (*Physalis angulata* L.) yang tercermin dari peningkatan efek sitotoksiknya terhadap sel Myeloma.