

BAB I

PENDAHULUAN

A. LATAR BELAKANG

Penyakit infeksi yang merupakan masalah kesehatan utama di negara berkembang makin berkurang seiring dengan kemajuan ekonomi yang memungkinkan pencegahan dan pengobatan secara lebih intensif, sebaliknya penyakit degeneratif dan kanker makin menonjol. Penyebab perubahan pola penyakit ini diduga adalah peningkatan industri, perubahan pola makan maupun gaya hidup. Dalam waktu sepuluh tahun, kanker sebagai penyebab kematian dengan urutan ke-12 naik menjadi urutan ke-6, diperkirakan setiap tahun terdapat 190.000 penderita baru dan seperlima diantaranya meninggal (Sumarny, 2002). Kasus kanker yang paling banyak di Indonesia adalah kanker serviks (leher rahim) dengan frekuensi relatif 29,63% dan di Yogyakarta sendiri frekuensinya 25,52% (Prajatmo, 1999). Kanker serviks telah menjadi penyebab kematian kedua setelah kanker payudara (Longo, 1998).

Kanker adalah penyakit yang ditandai oleh adanya pertumbuhan yang tidak terkontrol yang mengarah pada proses invasi ke jaringan sekitar dan menyebar (metastatis) kebagian tubuh lain (King, 2000). Dalam keadaan normal sel hanya membelah diri bila badan membutuhkan, umpamanya ada sel-sel yang perlu diganti karena mati atau rusak. Sedangkan sel kanker akan membelah diri meskipun tidak diperlukan, sehingga terjadi sel-sel baru yang berlebihan. Sel-sel baru mempunyai sifat seperti induknya yang sakit yaitu sel-sel yang tidak mempunyai daya atur (Mulyadi, 1997).

Kanker serviks (*Cervikal Cancer*) atau kanker leher rahim adalah kanker yang terjadi pada serviks uterus, suatu daerah pada organ reproduksi wanita yang merupakan pintu masuk ke arah rahim yang terletak antara rahim (uterus) dengan liang senggama (vagina). Kanker leher rahim dapat dapat dideteksi kehadirannya dengan suatu test yang disebut “*Pap smear test*“, sehingga semakin dini sel-sel abnormal tersebut terdeteksi, semakin rendahlah resiko seseorang menderita kanker leher rahim (Riono, 1999).

Beberapa usaha pengobatan kanker secara intensif telah dilakukan meliputi pengobatan secara fisik dengan pembedahan, radiasi maupun dengan senyawa kimiawi (kemoterapi) (Linder, 1985). Namun usaha-usaha ini belum memperoleh hasil yang memuaskan (Nafrialdi dan Ganiswara, 1995). Kegagalan ini antara lain karena rendahnya selektifitas obat antikanker yang digunakan ataupun patogenesis kanker yang belum jelas benar (Meiyanto dan Sugiyanto, 1997). Dengan demikian usaha menemukan antikanker yang lebih spesifik dan sensitif sangat diperlukan, diantaranya melalui eksplorasi tanaman obat yang diduga sebagai antikanker, salah satunya adalah tanaman ceplukan (*Physalis angulata* Linn.).

Menurut studi fitokimia, kandungan kimia ceplukan (*Physalis angulata* Linn.) secara biologi memiliki beberapa tipe zat aktif, umumnya meliputi flavonoid, alkaloid dan beberapa tipe yang berbeda dari steroid. Ceplukan telah menjadi subjek penelitian klinis (sekarang masih berlangsung), berdasar penelitian terdahulu menunjukkan bahwa ceplukan dapat digunakan sebagai stimulan sistem imun yang efektif, toksik pada beberapa tipe kanker dan sel leukemia, dan memiliki efek antimikroba (Hsieh *et al.*, 2006).

Ekstrak etanolik ceplukan (*Physalis angulata* Linn.) mempunyai efek sitotoksik dengan IC_{50} sebesar 36,674 $\mu\text{g/ml}$ terhadap sel kanker payudara MCF-7 (Sutrisna, 2006). Dengan banyaknya kematian akibat kanker leher rahim di Indonesia maka pada penelitian ini akan dilakukan penelitian tentang efek sitotoksik fraksi petroleum eter ekstrak etanolik tanaman ceplukan (*Physalis angulata* Linn.) terhadap sel HeLa.

B. PERUMUSAN MASALAH

Berdasarkan uraian tersebut penelitian ini diarahkan untuk menjawab permasalahan:

1. Apakah fraksi petroleum eter ekstrak etanolik tanaman ceplukan (*Physalis angulata* Linn.) mempunyai efek sitotoksik terhadap sel HeLa?
2. Apakah fraksi petroleum eter ekstrak etanolik tanaman ceplukan (*Physalis angulata* Linn.) mampu menghambat kinetika proliferasi sel HeLa?

C. TUJUAN PENELITIAN

Penelitian ini merupakan salah satu usaha untuk mendapatkan tanaman obat yang potensial dalam menanggulangi penyakit kanker. Secara khusus penelitian ini dilakukan terhadap tanaman *Physalis angulata* Linn. Penelitian ini dilakukan untuk menentukan potensi fraksi petroleum eter ekstrak etanolik tanaman *Physalis angulata* Linn. terhadap sel HeLa.

D. TINJAUAN PUSTAKA

1. Tinjauan Umum Kanker

Kanker merupakan salah satu penyebab kematian di Indonesia. Sangat disayangkan bahwa banyak orang di Indonesia belum mengetahui bahaya kanker dan sangat awam terhadap penyakit tersebut (Anonim, 1995). Penyakit kanker terdiri paling sedikit 100 jenis, di Amerika diperkirakan pasien yang meninggal disebabkan oleh kanker sebanyak 22% (King, 2000). Sedangkan di Indonesia sekitar 4,3% dan menduduki peringkat keenam kematian (Anonim, 1998).

a. Karakteristik Kanker

Kanker merupakan suatu penyakit dengan ciri gangguan atau kegagalan mekanisme pengatur multiplikasi dan fungsi homeostatis lainnya pada organisme multiseluler. Terjadinya kanker meliputi banyak tahapan, dimana pada setiap tahapan menggambarkan perubahan genetik yang akan mendorong transformasi sel normal menjadi sel kanker (malignant) (Hanahan dan Weinberg, 2000). Kanker sebenarnya merupakan suatu tumor atau neoplasma atau neoplastoma, yang terdiri dari tumor jinak (benign, benigna) dan tumor ganas (malignant, maligna, kanker). Kanker dibedakan menjadi dua yaitu sarkoma dan karsinoma. Sarkoma bersifat mesensimal misalnya fibrosarkoma, imposarkoma, osteosarkoma. Sedangkan karsinoma bersifat epithelial sebagai contoh kanker payudara, kanker lambung, kanker uterus, kanker kulit (Mulyadi, 1997). Sel kanker mempunyai ciri-ciri yang khas pada fenotipnya, yang berbeda dengan sel normal karena adanya mutasi pada genotipnya.

Secara umum ciri-ciri khas kanker adalah:

1. Memiliki kemampuan dalam memenuhi kebutuhan terhadap *signal* pertumbuhan

Sel yang normal harus menerima *signal* pertumbuhan mitogenik terlebih dahulu sebelum mereka berubah dari fase istirahat menuju fase proliferasi yang aktif, sedangkan sel kanker mampu menghasilkan beberapa *signal* pertumbuhan sendiri sehingga mengurangi ketergantungan pada *signal* dari lingkungan sekitarnya. Kemampuan ini diperoleh dengan memodulasi *signal* pertumbuhan ekstraselular, proses *signal* transduksi atau pada proses penerjemahan *signal* menjadi aksi dari sirkuit intraselular. Sel kanker memiliki kemampuan untuk mensintesis faktor pertumbuhan dan mempunyai kemampuan pada pembalikan *signal* (*positive feed back signaling*) yang dinamakan *autocrine*. Hilangnya ketergantungan *signal* secara eksogen merusak mekanisme homeostatis penting yang secara normal berfungsi menjaga keseimbangan bermacam-macam sel dalam jaringan.

2. Hilangnya sensitifitas sel terhadap *signal* antiproliferatif

Signal antiproliferatif bekerja untuk menjaga keteraturan sel dan homeostatis jaringan pada sel normal. *Signal* antiproliferatif dapat mengblokir proliferasi dengan dua mekanisme berbeda yaitu sel dipaksa keluar dari fase proliferasi yang aktif menuju fase istirahat (G_0) atau sel diinduksi untuk melepaskan potensi proliferasi secara permanen dengan menginduksi sel masuk ke dalam fase postmitotik. Sel kanker mampu menghindar dari *signal*

antiproliferatif yang berhubungan dengan daur sel secara spesifik dengan kemampuannya mengatur fase G₁. (Hanahan dan Weinberg, 2000).

3. Mampu menghindar dari mekanisme apoptosis (program bunuh diri sel)

Apoptosis merupakan program bunuh diri sel ketika sel tersebut mengalami kerusakan. Sel kanker mampu menghindari apoptosis sehingga sel kanker terus bertambah (Hanahan dan Weinberg, 2000). Resistensi kanker terhadap mekanisme apoptosis didapat dengan berbagai macam cara, yang secara umum melibatkan *p53 (tumor supresor gene)* (Sofyan, 2000).

4. Memiliki kemampuan replikasi yang tidak terbatas

Tiga kemampuan sel di atas menyebabkan hilangnya hubungan dengan *signal* pertumbuhan sel dalam lingkungan sehingga sel kanker mampu tumbuh terus menerus tidak terbatas. Pertumbuhan tidak terbatas ini disebabkan oleh karena sel-sel kanker mampu mengatasi krisis batas maksimum pertumbuhan yang disebabkan oleh adanya inhibisi kontak. *Senescence* adalah keadaan tidak terjadi pembelahan yang umumnya terjadi pada sel normal ketika pertumbuhan telah mencapai inhibisi kontak. Keadaan ini terjadi karena pada setiap kali sel mengalami pembelahan akan terjadi pemendekan telomer dan pada saat panjang telomer mencapai batas ambang (sel mengalami krisis), sel akan berhenti untuk membelah dan selanjutnya diikuti dengan kematian sel (*mortal*). Sel kanker mempunyai kemampuan untuk mengatasi keadaan krisis ini, sehingga sel menjadi *immortal*. Mekanismenya melalui upregulasi telomerase, yaitu enzim yang berperan dalam perpanjangan telomer (Hanahan dan Weinberg, 2000).

5. Mampu memacu terjadinya angiogenesis

Sel kanker mempunyai substansi yang dapat memacu terbentuknya pembuluh darah baru, proses ini dinamakan angiogenesis (Anonim, 2001). Untuk berkembang menjadi massa yang besar sel membutuhkan nutrisi dan oksigen. Nutrisi dan oksigen ini disuplay melalui pembuluh darah, sehingga sel kanker dapat terus bertahan hidup (Hanahan dan Weinberg, 2000).

6. Kemampuan sel kanker melakukan metastasis dan invasi

Selama masa perkembangannya, sel kanker kebanyakan mampu menghasilkan dan melepas sel pioner yang dapat berpindah, menginvasi jaringan didekatnya, kemudian pindah ke tempat lain dan membentuk koloni baru pada daerah yang luas dan pada tempat yang cukup nutrisi (Hanahan dan Weinberg, 2000).

b. Karsinogen dan Karsinogenesis

Karsinogen secara umum dapat diartikan sebagai penyebab penyakit kanker. Penyebab penyakit kanker hingga kini dapat digolongkan menjadi 3 faktor yaitu: fisika, virus dan senyawa kimia (senyawa karsinogen) (Mulyadi, 1997). Diperkirakan 85% disebabkan oleh pengaruh lingkungan hidup, diantaranya 50% berhubungan dengan karsinogen dalam makanan, 35% dengan merokok, 5% dengan pekerjaan dan sisanya 10% mungkin karena faktor virus, genetik dan mutasi spontan (Sukardja, 2000).

Karsinogenesis adalah suatu proses yang memberikan hasil suatu transformasi sel normal menjadi sel neoplastik yang disebabkan oleh perubahan genetik yang menetap atau mutasi (Underwood, 1999). Menurut teori Busch

terdapat 3 tingkat dalam karsinogenesis yaitu: inisiasi, promosi dan akselerasi. Pada tahap inisiasi senyawa karsinogen berikatan dengan kompleks DNA suppressor. Selanjutnya pada tahap promosi, suppressor akan dilepas dan terjadilah tahap ketiga yaitu akselerasi, sel akan tumbuh menjadi kanker (Mulyadi, 1997).

c. Siklus Sel

Sel kanker berada dalam tiga keadaan: sel yang sedang membelah (siklus proliferasi), sel dalam keadaan istirahat (tidak membelah, G_0) dan sel yang secara permanen tidak membelah (Ganiswara dan Nafrialdi, 1995). Siklus sel kanker ditunjukkan pada Gambar 1.



Gambar 1. Skema Pembelahan pada Sel Kanker (Ganiswara dan Nafrialdi, 1995).

Adapun tahap pembelahan sel kanker dibagi menjadi 4 tahap:

a) Tahap I atau Tahap G_1

Pada tahap ini dipersiapkan suatu interval dalam proses pembelahan sel, dan dimulai sintesis asam deoksiribonukleat (DNA). Waktu yang diperlukan untuk pembelahan sel ada yang sangat cepat dan ada pula yang lambat. Pada umumnya perbedaan kecepatan ini terletak perbedaan lamanya waktu yang diperlukan untuk menyelesaikan tahap I ini. Dalam tahap ini juga terdapat subtahap yang disebut tahap G_0 yaitu suatu tahap sel tidak mengalami

pembelahan atau sel tidak dalam aktivitas untuk membelah (Mulyadi, 1997). Pada akhir fase G_1 terjadi peningkatan RNA disusul dengan fase S yang merupakan saat terjadinya replikasi DNA (Ganiswara dan Nafrialdi, 1995).

b) Tahap II atau Tahap S

Tahap ini disebut tahap S karena pada tahap ini disintesis DNA. Tahap ini berlangsung kira-kira 6-8 jam (Mulyadi, 1997).

c) Tahap III atau Tahap G_2

Tahap ini disebut interval premitosis atau fase pascasintesis. Tahap ini disebut tahap G_2 , disintesis asam ribonukleat (RNA) dan protein. Tahap III lebih pendek daripada tahap S (Mulyadi, 1997). Fase premitosis (G_2) memiliki ciri antara lain sel berbentuk tetraploid, mengandung DNA dua kali lebih banyak daripada sel fase lain dan masih berlangsungnya sintesis RNA dan protein (Ganiswara dan Nafrialdi, 1995).

d) Tahap IV atau Tahap M

Pada saat ini aktivitas sintesis sangat rendah. Pada tahap M sel mengadakan mitosis, kromosom membelah menjadi dua. Berdasarkan morfologinya proses ini dapat dibagi menjadi 4 subfase, yaitu profase, metafase, anafase dan telofase (Mulyadi, 1997).

d. Regulasi Sel

Regulasi daur sel (*cell cycle*) menentukan proses pertumbuhan sel. Pada sel kanker terjadi regulasi abnormal dari *cell cycle* tersebut. Kanker muncul dari akumulasi perubahan genetik yang menyebabkan sel berkembang tanpa kontrol dan perubahan ini melibatkan empat sampai enam perubahan genetik (Da'i,

2003). Pertumbuhan menunjukkan adanya perubahan ukuran sel dan merupakan hasil akhir dari proses-proses yang berpengaruh pada kehidupan sel dan tersebut seperti proliferasi, diferensiasi dan kematian sel. Sel yang mengalami diferensiasi tidak mengalami proliferasi atau potensi proliferasi sel tersebut berkurang. Sel kanker sering kali dikatakan sebagai sel yang berproliferasi lebih cepat dibandingkan dengan keadaan normalnya (King, 2000). Regulasi sel dapat dilihat pada Gambar 2.

Gambar 2. Regulasi *Cell Cycle* (Frank and Teich, 1997)

Di dalam nukleus, suatu aktivator transkripsi akan merespon dengan mengaktifkan sekelompok gen yang diperlukan sel untuk melakukan siklus pertumbuhan. Adanya aktivator transkripsi akan menyebabkan sel yang semula berada pada fase G_0 masuk ke fase G_1 . Pada fase ini sel akan mensintesis protein-protein khusus antara lain Cyc (*cyclin*) dan Cdk (*cyclin dependent kinase*). CycD membentuk kompleks dengan Cdk4 atau Cdk6 dan memfosforilasi pRb. Fosforilasi pRb menyebabkan pelepasan E2F, suatu faktor

transkripsi yang menginduksi transkripsi CycE dan CycA. Fosforilasi pRb dilanjutkan oleh kompleks CycE-Cdk2 dan kemudian oleh CycA-Cdk2 dan menjadi pRb yang sangat terfosforilasi. Protein E2F menginduksi gen-gen yang esensial untuk sintesis, mitosis dan terjadinya *cell cycle progression*. Pada tiap tahap dari *cell cycle* baik G₁, S, G₂ atau M ada mekanisme kontrol/*check point* yang melibatkan p53, pRb, INK4 (*Cdk-inhibitor*) dan ARF. Mekanisme ini menyebabkan *delay*, *arrest* atau kematian sel bila ada hal yang tidak beres, misalnya ada DNA yang rusak atau tereplikasi (King, 2000).

d. Penanggulangan Kanker

Hingga kini pengobatan neoplastik atau kanker dapat dilakukan dengan 3 cara yaitu: pembedahan, radiasi dan dengan pemberian obat antineoplastik atau antikanker (Mulyadi, 1997). Antikanker diharapkan memiliki toksisitas selektif artinya menghancurkan sel kanker tanpa merusak sel jaringan normal. Pada umumnya antineoplastik menekan pertumbuhan atau proliferasi sel dan menimbulkan toksisitas karena menghambat pembelahan sel normal yang proliferasinya cepat. Terapi hanya dapat dikatakan berhasil baik, bila dosis yang digunakan dapat mematikan sel tumor ganas dan tidak terlalu mengganggu sel normal yang berproliferasi (Ganiswara dan Nafrialdi, 1995).

2. Kanker Cerviks (leher rahim)

Karsinoma serviks uteri terbanyak dijumpai di negara-negara sedang berkembang seperti Indonesia, India, Bangladesh, Thailand, Vietnam dan Filipina. Di Indonesia, karsinoma serviks uteri menempati urutan pertama dari

penyakit keganasan yang ada, sedangkan di negara maju berada pada urutan kedua setelah karsinoma payudara (Tambunan, 1995). Kanker serviks merupakan kanker yang terbanyak pada wanita di dunia setelah kanker payudara. Tetapi ia merupakan kanker yang terbanyak di negara yang sedang berkembang. Di Indonesia berdasarkan penelitian di Jakarta, Semarang, Yogyakarta dan Surabaya ternyata kanker serviks juga menduduki urutan pertama melebihi kanker payudara (Anonim, 1992).

3. Sel HeLa

HeLa *cell lines* merupakan *continous cell lines* yang tumbuh sebagai sel yang semi melekat. Sel HeLa diturunkan dari sel epitel kanker leher rahim (serviks) manusia. Sel ini diisolasi sejak tahun 1951 dari rahim wanita penderita kanker leher rahim, berasal dari Baltimore yang bernama Henrietta Lacks (31 tahun) (Julia, 2001 *cit* Da'I, 2003). Sel HeLa dapat digunakan untuk tes antitumor, transformasi, uji tumorigenesis, biologi sel dan invasi bakteri. Sel ini secara morfologi merupakan sel epithelial dan sudah dimasuki oleh *Human Papiloma Virus* (HPV) tipe 18. Sel ini bersifat immortal dan sangat agresif sehingga mudah untuk dikultivasi tetapi sel ini mudah menginvasi kultur sel lain (Doyle dan Griffiths, 2000).

Sel ini cukup aman dan merupakan sel manusia yang umum digunakan untuk kepentingan kultur sel (Anonim^a, 2000). Media yang digunakan pada kultur sel HeLa adalah RPMI 1640-serum. Media RPMI mengandung nutrisi yang dibutuhkan sel seperti asam amino, vitamin, garam-garam anorganik dan

glukosa. Serum mengandung hormon yang memacu pertumbuhan sel, albumin merupakan protein transport, lipid yang diperlukan untuk pertumbuhan sel dan mineral yang merupakan kofaktor enzim. Seluruh komponen dalam media RPMI-serum tersebut untuk memberikan nutrisi yang cukup pada sel untuk tetap bertahan hidup dan memperbanyak diri (Freshney, 1987).

4. Skrining Aktifitas Tanaman Obat Indonesia

Di Indonesia memiliki kurang lebih 30.000 jenis tanaman herbal dengan 1000 jenis sudah diketahui memiliki zat aktif dan 800 jenis sudah menjadi ramuan dan telah menunjukkan bukti khasiat obat suatu penyakit. Tanaman obat banyak dimanfaatkan oleh industri farmasi untuk dijadikan obat paten (Siswoyo, 2004). Secara umum pengobatan cara timur bertujuan meningkatkan daya tahan tubuh, menghambat pertumbuhan kanker, mengurangi keluhan dan memperbaiki fungsi utama tubuh (Mangan, 2003). Tren gaya hidup yang mengarah kembali ke alam (*back to nature*) membuktikan bahwa hal-hal yang alami bukanlah hal yang kampungan atau ketinggalan jaman. Tanaman-tanaman berkhasiat obat ditelaah dan dipelajari secara ilmiah. Hasilnya pun mendukung bahan tanaman obat memang memiliki kandungan zat-zat atau senyawa yang secara klinis terbukti bermanfaat bagi kesehatan (Muchlisah, 2005).

Salah satu tanaman obat asal negara tropis yang berpotensi untuk dikembangkan sebagai obat kanker adalah *Physalis angulata* Linn. atau dikenal dengan nama ceplukan. Ceplukan telah lama menarik perhatian peneliti karena

memiliki kemampuan melawan beberapa penyakit kanker (Anonim, 2003). Tanaman ceplukan ini merupakan terna yang tumbuh semusim; memiliki akar, batang, daun, bunga, buah dan biji. Tanaman ceplukan cocok hidup di tanah yang subur, gembur, tidak tergenang air dan memiliki pH mendekati netral (Pitojo, 2002). Di Jawa tumbuh di daerah dengan ketinggian 1-1550 m dpl, di kebun, tegalan, tepi jalan, semak, hutan ringan dan tepi hutan (Sudarsono *et al.*, 2002).

Berdasarkan penelitian Chiang H.C *et al.* (2006), fisalin F dan fisalin D yang diisolasi dari ekstrak etanolik seluruh bagian tanaman dari *Physalis angulata* Linn. (Solanaceae) menunjukkan aktivitas sitotoksik secara *in vitro* terhadap beberapa sel kanker pada hewan {H1477 (melanoma), Hep-2 (*laryngeal*), 8401 (*glioma*)} dan manusia {HA22T (hepatoma), Kb (*nasopharynx*), Colo-205 (kolon), Calu-1 (paru-paru)}. Fisalin F juga memiliki efek antitumor secara *in vivo* dalam melawan P388 *lymphocytic* leukemia pada tikus sedangkan fisalin D tidak aktif baik pada *in vitro* maupun *in vivo*.

a. Ekstraksi

Metode penyarian antara lain:

1) Metode Maserasi

Maserasi adalah proses pengekstrakan simplisia dengan menggunakan pelarut dengan beberapa kali pengocokan atau pengadukan pada temperatur ruang (kamar). Secara teknologi termasuk ekstraksi dengan prinsip metode pencapaian konsentrasi pada keseimbangan (Anonim^b, 2000). Maserasi digunakan untuk penyarian simplisia yang

mengandung zat aktif yang mudah larut dalam cairan penyari, tidak mengandung zat yang mudah mengembang dalam cairan penyari dan tidak mengandung benzoin, stirok dan lain-lain.

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

2) Metode Perkolasi

Perkolasi adalah ekstraksi dengan pelarut yang selalu baru sampai sempurna (*exhaustive extraction*) yang umumnya dilakukan pada temperatur ruangan. Proses ini terdiri dari tahapan pengembangan bahan, tahap maserasi antara, tahap perkolasi sebenarnya (penetasan/ penampungan ekstrak), terus menerus sampai diperoleh ekstrak (perkolat) yang jumlahnya 1-5 kali bahan (Anonim^b, 2000). Kekuatan yang berperan pada perkolasi antara lain gaya berat, kekentalan, daya larut, tegangan permukaan, difusi, osmosa, adesi, daya kapiler dan daya geseran (friksi).

Cara perkolasi lebih baik dibandingkan dengan cara maserasi karena :

- a) Aliran cairan penyari menyebabkan adanya pergantian larutan yang terjadi dengan larutan yang konsentrasinya lebih rendah, sehingga meningkatkan derajat perbedaan konsentrasi.

b) Ruang antara butir-butir serbuk simplisia membentuk saluran tempat mengalir cairan penyari. Karena kecilnya saluran kapiler tersebut, maka kecepatan pelarut cukup untuk mengurangi lapisan batas, sehingga dapat meningkatkan perbedaan konsentrasi (Anonim, 1986).

3) Soxhletasi

Soxhletasi adalah ekstraksi dengan menggunakan pelarut yang selalu baru yang umumnya dilakukan dengan alat khusus sehingga terjadi ekstraksi kontinyu dengan jumlah pelarut relatif konstan dengan adanya pendingin balik (Anonim^b, 2000).

Bahan yang akan diekstraksi diletakkan dalam sebuah kantung ekstraksi (kertas, karton) di bagian dalam alat ekstraksi dari gelas yang bekerja kontinyu (perkolator). Wadah gelas yang mengandung kantung diletakkan antara labu penyulingan dengan pendingin aliran balik dan dihubungkan dengan labu melalui pipa. Labu tersebut berisi bahan pelarut, yang menguap dan mencapai kedalaman pendingin aliran balik melalui pipet, berkondensasi di dalamnya, menetes ke atas bahan yang diekstraksi dan menarik bahan keluar yang diekstraksi. Larutan berkumpul di dalam wadah gelas dan setelah mencapai tinggi maksimalnya, secara otomatis dipindahkan ke dalam labu. Dengan demikian zat yang terekstraksi terakumulasi melalui penguapan bahan pelarut murni berikutnya (Voight, 1986).

Pada cara ini diperlukan bahan pelarut dalam jumlah kecil, juga simplisia selalu baru artinya suplai bahan pelarut bebas bahan aktif berlangsung secara terus menerus (pembaharuan, pendekatan konsentrasi secara kontinyu). Kelemahannya adalah waktu yang dibutuhkan untuk ekstraksi cukup lama, sehingga kebutuhan energinya tinggi (listrik, gas) (Voight, 1986).

b. Tanaman Ceplukan (*Physalis angulata* Linn.)

1. Klasifikasi Tanaman

Divisio	: Spermatophyta
Sub Divisio	: Angiospermae
Classis	: Dicotyledoneae
Sub Classis	: Sympetalae
Ordo	: Tubiflorae (Solanales, Personatae)
Famili	: Solanaceae
Genus	: <i>Physalis</i>
Jenis	: <i>Physalis angulata</i> Linn.

(Van Steenis, 1997)

2. Nama Lain

Nama lain dari ceplukan adalah Morel berry (Pitojo, 2002). Berdasarkan daerahnya, ceplukan dikenal dengan berbagai nama yaitu Ceplukan, ceplukan, ciplukan (Jawa), Cecendet, cecendetan, cecenet (Sunda), Yoryoran (Madura), Keceplukan, angket (Bali), Daun boba, daun kopo-kopo (Sumatra) (Mangan, 2003).

3. Manfaat Tanaman

Berdasar studi terdahulu menunjukkan bahwa ceplukan sebagai stimulan sistem imun yang efektif toksik pada beberapa tipe kanker dan sel leukemia dan memiliki efek antimikroba (Hsieh *et al.*, 2006).

Menurut Departemen Kesehatan Republik Indonesia, tanaman ceplukan dapat digunakan dalam pengobatan beberapa penyakit diantaranya bisul, gusi berdarah dan kencing manis (Pitojo, 2002). Saponin yang terkandung dalam ceplukan memberikan rasa pahit dan berkhasiat sebagai antitumor dan menghambat pertumbuhan kanker, terutama kanker usus besar, sementara flavonoidal dan polifenol berkhasiat sebagai antioksidan (Mangan, 2003).

Ekstrak herba ceplukan yang larut dalam etanol mempunyai efek estrogenik. Infusa akar ceplukan dapat mengurangi efek hepatotoksik yang diakibatkan oleh pemberian karbon tetraklorida pada tikus. Fisalin B dan fisalin F menghambat pertumbuhan beberapa sel leukemia manusia: K562 (eritroleukemia), AMP1840 (leukemia T-limfosit akut), HL-60 (leukemia promielositik akut), KG-1 (leukemia mieloid akut), sel B (leukemia limfoid B akut) (Sudarsono *et al.*, 2002)

4. Kandungan Kimia Ceplukan (*Physalis angulata* Linn.)

Ceplukan mengandung beberapa macam zat kimia yang bermanfaat bagi pengobatan. Herba mengandung fisalin B, fisalin D, fisalin F dan withangulatin A. Biji tumbuhan yang termasuk *Physalis*, suku *solanaceae* mengandung 12-25% protein, 15-40% minyak lemak

dengan komponen utama asam palmitat dan sterarat (10-20%). Alkaloid terdapat pada akar tumbuhan yang termasuk suku solanaceae. Daun pada jenis *Physalis* pada umumnya ditemukan glikosida flavonoid (luteolin). Tunas hasil kultur jaringan tumbuhan ditemukan flavonoid dan saponin yang mirip dengan yang terdapat pada tumbuhan asal (Sudarsono *et al.*, 2002). Daun dan akar *Physalis angulata* Linn. mengandung saponin dan flavonoida, di samping itu daunnya mengandung polifenol (Hutapea, 2000).

Menurut De Padua *et al.* (1999), dikatakan pula bahwa senyawa saponin merupakan larutan berbuih dan diklasifikasikan oleh struktur aglikon ke dalam triterpenoid dan steroid saponin. Senyawa tersebut mempunyai efek antiinflamasi, analgesik dan sitotoksik.

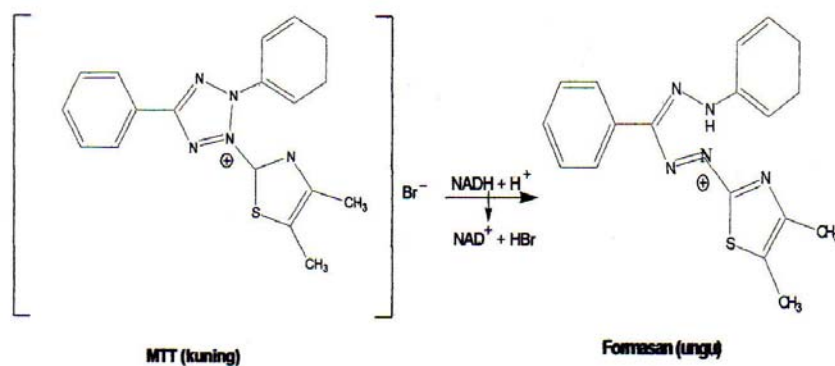
5. Uji Sitotoksik

Uji sitotoksik adalah uji *in vitro* dengan menggunakan kultur sel yang digunakan untuk mendeteksi adanya aktivitas neoplastik dari suatu senyawa. Sistem ini merupakan uji kuantitatif dengan cara menetapkan kematian sel. Akhir-akhir ini uji sitotoksik digunakan secara luas menggantikan uji toksisitas secara *in vivo* yang menggunakan hewan. Ada beberapa alasan yaitu *in vitro* sebagai tahap awal mengembangkan obat baru, lebih ekonomis dibanding uji toksisitas secara *in vivo* dan keterbatasan hewan sebagai hewan uji untuk dikorelasikan hasilnya pada manusia karena adanya perbedaan antara kedua *spesies* (Fresney, 1987).

Beberapa metode umum yang digunakan untuk uji sitotoksik adalah sebagai berikut:

- a) Metode MTT
- b) Perhitungan langsung (Junaidi, 2005).

Efek sitotoksik dari ekstrak ditentukan dengan mengukur jumlah sel hidup menggunakan pereaksi MTT, yaitu suatu garam tetrazolium yang dapat dipecah oleh sistem reduktase suksinat-tetrazolium menjadi formazan. Formazan merupakan zat berwarna ungu dan setelah ditambahkan dengan *stop solution*, intensitas warna ungu yang terbentuk dapat ditetapkan secara spektrofotometri (Sigma, 1999). Dalam hal ini *stop solution* berfungsi untuk mendenaturasi protein (berstruktur kuartener) menjadi unit rantai polipeptida dan membentuk kompleks SDS-polipeptida dan untuk melarutkan garam formazan (Burgess, 1995). Reaksi MTT membentuk garam formazan ditunjukkan Gambar 3.



Gambar 3. Reaksi Reduksi MTT menjadi Formazan

Uji sitotoksik digunakan untuk menentukan parameter nilai IC_{50} . Nilai IC_{50} menunjukkan nilai konsentrasi yang menghasilkan hambatan proliferasi sel 50% dan menunjukkan potensi ketoksikan suatu senyawa terhadap sel. Nilai ini merupakan patokan untuk melakukan uji pengamatan kinetika sel (Meiyanto, 2002). Nilai IC_{50} yang menunjukkan potensi suatu senyawa sebagai *sitostatika* apabila semakin besar harga IC_{50} maka senyawa tersebut semakin tidak toksik.

D. HIPOTESIS

Ekstrak ceplukan diekstraksi dari steroid tanaman yang disebut fisalin yang menunjukkan aktivitas *in vitro* yang kuat dalam melawan berbagai tipe sel kanker pada manusia dan hewan meliputi kanker paru-paru, kolon, *nasopharynx*, hati, melanoma dan glioma (*brain*) (Hsieh *et al.*, 2006).

Ekstrak etanolik ceplukan (*Physalis angulata* Linn.) mempunyai efek sitotoksik dengan IC_{50} sebesar 36,674 $\mu\text{g/ml}$ terhadap sel kanker payudara MCF-7 (Sutrisna, 2006).

Berdasarkan penelitian di atas dapat ditarik suatu hipotesis bahwa fraksi petroleum eter ekstrak etanolik tanaman ceplukan (*Physalis angulata* Linn.) mempunyai efek sitotoksik terhadap sel HeLa dan mampu memperpanjang waktu penggandaan sel HeLa.