

## Deskripsi

### **EKSTRAK DAUN BENALU CENGKEH (*Dendrophthoe pentandra* (L.) Miq.) SEBAGAI PENGHAMBAT SEL KANKER**

#### **5 Bidang Teknik Invensi**

Invensi ini berhubungan dengan ekstrak etanol 70% daun benalu cengkeh (*Dendrophthoe Pentandra* (L.) Miq) yang memiliki potensi aktif dalam membunuh sel kanker Hela, sel kanker payudara MCF-7 dan T47D serta selektif terhadap sel normal.

10

#### **Latar Belakang Invensi**

Kanker merupakan penyebab kematian paling tinggi di dunia dengan persentase sebesar 13% dari semua kematian di dunia (WHO, 2011. 10 Fact on Cancer. *www.who.int*). Sementara itu, sejak tahun 15 2008 hingga 2012 insidensi kanker mengalami peningkatan lebih dari 20% dengan peningkatan kematian akibat kanker payudara mencapai 14% (WHO, 2013. Latest World Cancer Statistics Global Cancer Burden Rises to 14.1 Million New Cases in 2012 (*Internasional Agency for Research on Cancer. www.who.int*). Kemoterapi merupakan pengobatan 20 medis yang paling umum digunakan untuk pengobatan kanker, tetapi banyak mekanisme molekuler yang berkontribusi pada perkembangan obat tersebut. Publikasi ilmiah Minami et al (2010) Cardiovascular side-effects of modern cancer therapy *Circ Journal* Volume 9 menunjukkan terjadinya efek samping dari agen-agen sitotoksik 25 untuk pengobatan kanker meliputi gagal jantung, tromboemboli, hipertensi berat, dan aritmia. Berdasarkan hal tersebut, pengembangan obat kanker menjadi sangat penting untuk terus dilakukan dengan tujuan mendapatkan agen kemoterapi yang selektif dengan resistensi dan efek samping yang minimal melalui eksplorasi 30 tanaman obat yang terbukti berkhasiat sebagai antikanker.

Benalu Cengkeh merupakan tanaman parasit yang tidak banyak dimanfaatkan dan mudah ditemukan di Indonesia. Publikasi ilmiah Fitrilia et al (2015) *Journal of Pharmacy* Volume 5 menunjukkan benalu cengkeh mengandung metabolit sekunder tanin, saponin, 35 triterpenoid dan flavonoid. Diketahui bahwa flavonoid kuersetin

yang terkandung dalam daun benalu cengkeh merupakan senyawa dengan potensi bioaktivitas yang tinggi sebagai antikanker. Potensi daun benalu cengkeh menunjukkan aktivitas antioksidan yang kuat dengan nilai  $IC_{50}$  ekstrak dan fraksi etil asetat yaitu 6.4 $\mu$ g/ml dan 6.8 $\mu$ g/ml. Diketahui bahwa aktivitas antioksidan berfungsi sebagai penangkal radikal bebas yang merupakan salah satu faktor pemicu terjadinya kanker. Selain itu, publikasi ilmiah Elsyana et al (2016) *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, dx.doi.org/10.1155/2016/3242698 menunjukkan ekstrak etanol daun benalu cengkeh memiliki potensi toksisitas dengan metode *Brine Shrimp Lethality Test* dengan  $LD_{50}$  1673,72  $\mu$ g/mL. Sementara itu, potensi antikanker ekstrak daun benalu cengkeh (*Dendrophthoe pentandra* L. Miq) sendiri belum dilaporkan.

Invensi yang berkaitan dengan pengobatan antikanker dengan bahan alam diantaranya Paten no IDP000047431 menggunakan daun *Brucea javanica* sebagai obat antikanker. Selain itu, paten P00201507680 menggunakan ekstrak etanol daun benalu mangga sebagai terapi kanker kolon dan Paten P00201604460 menggunakan ekstrak isolat kapang endofit daun sirsak sebagai antikanker payudara dan Paten P00201709140 menggunakan tumbuhan mangrove (*Cynometra ramiflora* Linn.) sebagai obat antikanker.

Invensi yang berkaitan dengan daun benalu diantaranya paten P00201702665 menggunakan ekstrak etanol daun *Dendrophthoe pentandra* sebagai obat hewan alami progesteron kompositum peningkatan hormon progesteron. Selain itu, paten S00199800089 membuat sediaan farmasi teh celup dari daun *Dendrophthoe pentandra* untuk pengobatan kanker tumor. Di Cina paten CN106174253A *Dendrophthoe pentandra* digunakan untuk memperkuat kualitas tanaman kubis. Berdasarkan invensi yang berkaitan, menunjukkan belum terdapat paten yang melindungi penggunaan ekstrak daun benalu cengkeh dalam pengobatan kanker.

Keunggulan invensi penggunaan ekstrak daun benalu cengkeh sebagai alternatif pengobatan kanker menunjukkan potensi sitotoksik yang aktif terhadap sel kanker servik hela dan sel kanker payudara (T47D dan MCF-7). Selain itu, ekstrak daun benalu cengkeh ini memiliki selektivitas yang tinggi terhadap sel normal

vero. Oleh karena itu, invensi berupa ekstrak daun benalu cengkeh berpotensi besar untuk dikembangkan menjadi produk farmasi berbasis bahan alam sebagai alternatif pengobatan kanker.

## 5 Uraian Singkat Invensi

Tujuan invensi menggunakan suatu ekstrak etanol 70% daun benalu cengkeh (*Dendrophthoe Pentandra* (L.) Miq) sebagai penghambat sel kanker MCF-7 dan T47D secara *in vitro* ini diantaranya dalam rangka upaya penemuan obat baru melalui eksplorasi tanaman obat sebagai agen antikanker yang memiliki tingkat efektifitas dan selektivitas yang tinggi. Berdasarkan hasil pengujian yang menunjukkan potensi sitotoksiknya terhadap sel kanker dan tingkat selektifitasnya yang tinggi terhadap sel normal sehingga invensi ini berpotensi untuk dikembangkan menjadi produk farmasi berbasis bahan alam melalui proses standarisasi dan formulasi selanjutnya. Selain itu dengan adanya invensi ini dapat meningkatkan nilai ekonomis dan nilai khasiat dari daun benalu cengkeh dalam pengolahannya di perkebunan cengkeh yang sebelumnya hanya dianggap sebagai tanaman parasit.

Ekstrak daun benalu cengkeh (*Dendrophthoe Pentandra* (L.) Miq) sebagai alternatif pengobatan antikanker dibuat menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol 70%. Hasil ekstraksi yang diperoleh menunjukkan karakteristik ekstrak kental daun benalu cengkeh diantaranya berwarna hijau kecoklatan, kental dan berbau khas aromatik dengan rendemen sebesar 16,92%. Selanjutnya ekstrak tersebut dianalisa kandungan senyawa aktifnya secara kromatografi lapis tipis dan menunjukkan ekstrak etanol daun benalu cengkeh mengandung flavonoid kuersetin dengan nilai  $hRf$  93.

Pengujian antikanker ekstrak tersebut dilakukan secara *in vitro* terhadap sel kanker servik hela, sel kanker payudara T47-D dan MCF-7 menggunakan teknik MTT (3(4,5-Dimetillitiazol-2-il)-2,5 difeniltetrazolium bromida) dan selektivitasnya terhadap sel normal dilihat dari nilai *Selectivity Index*. Ekstrak kental daun benalu cengkeh menunjukkan potensi antikanker yang berpotensi dikembangkan sebagai agen antikanker dengan nilai  $IC_{50}$  terhadap sel kanker Hela, T47D dan MCF-7 secara berturut-turut sebesar 68,96

$\mu\text{g/mL}$ , 43,796  $\mu\text{g/mL}$  dan 96,353  $\mu\text{g/mL}$  serta memiliki selektifitas terhadap sel normal yang tinggi dengan *Selectivity Index* sebesar 5,27. Berdasarkan hasil tersebut, menunjukkan ekstrak kental daun benalu dapat dikembangkan sebagai bahan obat herbal terstandar antikanker.

### **Uraian Lengkap Invensi**

Invensi yang diusulkan ini menggunakan daun benalu cengkeh yang berasal dari Matesih Karanganyar untuk dibuat menjadi ekstrak kental daun cengkeh yang terbukti sebagai penghambat sel kanker. Oleh karena itu, metode pembuatan ekstrak tersebut dilakukan dengan teknik yang reliabel dan dapat menjamin kualitas ekstrak yang dihasilkan. Sebelum ekstraksi, dilakukan pembuatan simplisia menggunakan proses pengeringan di bawah sinar matahari dengan ditutup kain hitam selama 5 hari. Hal ini bertujuan agar senyawa metabolit sekunder yang terdapat dalam bahan stabil dan tidak mudah ditumbuhi oleh mikroorganisme. Setelah kering, dilakukan sortasi kering dan daun kering dihaluskan dengan pemadu sampai terbentuk serbuk dan diayak dengan ayakan 65 mesh. Teknik ekstraksi yang digunakan menggunakan maserasi dengan pelarut etanol 70% dengan perbandingan bahan dan pelarut sebesar 1 : 10. Selanjutnya ekstraksi dilakukan selama 3 hari dengan pengadukan yang konsisten 5x tiap 24 jam dan filtrat yang diperoleh diuapkan menggunakan evaporator putar pada suhu 60<sup>0</sup>C sampai diperoleh ekstrak kental.

Hasil ekstraksi yang diperoleh memiliki karakteristik diantaranya berwarna hijau kecoklatan, kental dan berbau khas aromatik dengan rendemen sebesar 16,92%. Identifikasi kandungan senyawa flavonoid pada ekstrak etanol daun benalu cengkeh dilakukan melalui uji kromatografi lapis tipis. Sistem fase diam yang digunakan adalah silika gel GF<sub>254</sub> yang bersifat polar dan sistem fase gerak yang digunakan adalah campuran butanol, asam asetat dan air (5:1:1). Berdasarkan identifikasi secara KLT menunjukkan ekstrak etanol daun benalu cengkeh mengandung flavonoid kuersetin dengan nilai *hRf* 93. Keberadaan flavonoid yang

terdapat dalam ekstrak tersebut diduga yang bertanggung jawab terhadap aktivitas antikankernya.

Ekstrak kental daun benalu cengkeh tersebut selanjutnya diuji sitotoksitasnya menggunakan metode MTT (3(4,5-Dimetillitiazol-2-il)-2,5 difeniltetrazolium bromida) terhadap sel kanker Hela, T47D dan MCF-7 serta diujikan terhadap sel vero yang merupakan sel dari jaringan normal. Berdasarkan hasil uji menunjukkan nilai  $IC_{50}$  ekstrak kental daun benalu cengkeh sel kanker Hela, T47D dan MCF-7 secara berturut-turut sebesar 68,96  $\mu\text{g/mL}$ , 43,796  $\mu\text{g/mL}$  dan 96,353  $\mu\text{g/mL}$ . Hasil tersebut menunjukkan ekstrak kental daun benalu cengkeh berpotensi aktif sebagai antikanker. Selain itu, hasil uji terhadap sel normal menunjukkan nilai *selectivity index* sebesar 5,27 (lebih dari 3) yang menunjukkan ekstrak daun benalu cengkeh selektif terhadap sel normal. Invensi ini berpotensi untuk dikembangkan menjadi produk farmasi berbasis bahan alam melalui proses standarisasi dan formulasi sediaan farmasi berupa kapsul, pil atau tablet.

**Klaim**

1. Suatu ekstrak etanol 70% daun benalu cengkeh (*Dendrophthoe Pentandra* (L.) Miq) sebagai penghambat sel kanker MCF-7 dan T47D secara *in vitro*.

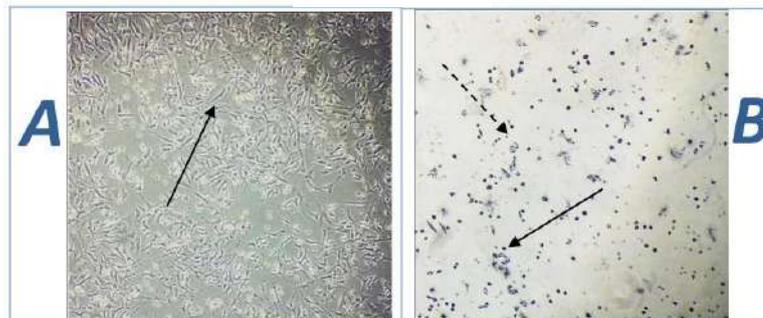
**Abstrak****EKSTRAK DAUN BENALU CENGKEH (*Dendrophthoe pentandra* (L.) Miq.)  
SEBAGAI PENGHAMBAT SEL KANKER**

5 Kanker merupakan salah satu penyebab kematian utama di seluruh dunia. Benalu cengkeh (*Dendrophthoe pentandra* L. Miq) merupakan tanaman parasit yang mengandung senyawa flavonoid kuersetin yang menjanjikan untuk dikembangkan sebagai agen antikanker. Pengobatan medis terutama kemoterapi menunjukkan resistensi dan efek samping yang ditimbulkan dari pengobatan tersebut. Invensi obat kanker dari bahan alam menjadi sangat penting untuk terus dilakukan dengan tujuan untuk mendapatkan agen kemoterapi yang selektif dengan resistensi dan efek samping yang minimal. Ekstraksi daun benalu cengkeh menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol 70% sedangkan sitotoksisitas *in vitro*nya 15 diuji dengan metode MTT (3(4,5-Dimetillitiazol-2-il)-2,5 difeniltetrazolium bromida). Potensi antikankernya diperoleh dari nilai  $IC_{50}$  dan selektivitasnya terhadap sel normal dilihat dari nilai *Selectivity Index*. Karakteristik ekstrak kental yang 20 diperoleh berwarna hijau kecoklatan, kental dan berbau khas aromatik dengan rendemen sebesar 16,92% serta mengandung flavonoid kuersetin secara kromatografi lapis tipis dengan nilai  $R_f$  93. Ekstrak etanol daun benalu cengkeh terbukti berpotensi sebagai agen antikanker dengan aktivitas sitotoksik yang aktif terhadap 25 sel kanker HeLa, T47D dan MCF-7 dengan  $IC_{50}$  secara berturut-turut sebesar 68,96  $\mu\text{g/mL}$ , 43,796  $\mu\text{g/mL}$  dan 96,353  $\mu\text{g/mL}$ . Selain itu, ekstrak daun benalu cengkeh bersifat selektif terhadap sel normal dengan nilai *Selectivity Index* sebesar 5,27. Hal tersebut menunjukkan ekstrak daun benalu cengkeh potensial untuk 30 dikembangkan menjadi agen kemoterapi sebagai bahan obat herbal terstandar antikanker.

Gambar

Gambar. ekstrak etanol 70% daun benalu cengkeh (*Dendrophthoe Pentandra* (L.) Miq) sebagai penghambat sel kanker MCF-7 dan T47D secara *in vitro*

5

**Sel T47D**

10

**Sel MCF-7**

15

20

Gambar. Morfologi penghambatan Sel T47D dan MCF-7 dengan pemberian ekstrak etanol 70% pada mikroskop dengan perbesaran 100x Keterangan: A. Sel T47D dan MCF-7 sebelum perlakuan, B. Sel T47D dan MCF-7 setelah pemberian ekstrak etanol 70% daun benalu cengkeh