

## Karakteristika dan Khasiat Daun Keladi Tikus (*Typhonium divaricatum* (L.) Decne) Iradiasi

### Characteristics and Efficacy of Irradiated Keladi Tikus (*Typhonium divaricatum* (L.) Decne) Leaves

Ermin Katrin<sup>1</sup>, Fahrul Nizar Novagusda<sup>2</sup>, Susanto<sup>1</sup> dan Hendig Winarno<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Laboratorium Bahan Kesehatan PATIR - BATAN

Jl. Lebak Bulus Raya No. 49, Pasar Jumat, Jaksel 12440

e-mail : erminkk@batan.go.id ; erminkatrin@hotmail.com

<sup>2</sup> Fakultas Farmasi, Universitas Pancasila

Jl. Srengseng Sawah, Jagakarsa, Jaksel

Diterima 17 Januari 2012; Disetujui 30 Maret 2012

#### ABSTRAK

**Karakteristika dan Khasiat Daun Keladi Tikus (*Typhonium divaricatum* (L.) Decne) Iradiasi.** Keladi Tikus (*Typhonium divaricatum* (L.) Decne), Araceae, merupakan salah satu tanaman Indonesia yang dapat menghambat pertumbuhan sel kanker. Teknik pengawetan simplisia obat herbal menggunakan iradiasi gamma telah lama digunakan untuk memperpanjang masa simpan, namun baru sedikit data-data ilmiah yang mempelajari pengaruh iradiasi terhadap khasiat simplisia tersebut. Pada penelitian ini dilakukan iradiasi terhadap simplisia daun keladi tikus dengan dosis 0, 5, 7,5, 10 dan 15 kGy, kemudian dilanjutkan dengan maserasi setiap sampel daun keladi tikus dengan *n*-heksan, etil asetat dan etanol berturut-turut. Pengaruh iradiasi gamma dipelajari melalui uji aktivitas inhibisi sel leukemia L1210 terhadap ekstrak, fraksinasi secara kromatografi kolom, KLT, KCKT dan spektrofotometri. Hasil uji sitotoksitas terhadap sel leukemia L1210 menunjukkan bahwa ekstrak etil asetat paling aktif berpotensi sebagai antikanker nilai IC<sub>50</sub> 11,81 µg/mL. Hasil fraksinasi ekstrak etil asetat dengan kromatografi kolom diperoleh 6 fraksi. Fraksi 2 merupakan fraksi paling aktif dengan nilai IC<sub>50</sub> terendah 4,14 µg/mL. Iradiasi gamma hingga dosis 15 kGy menurunkan aktivitas sitotoksik fraksi 2 terhadap pertumbuhan sel leukemia L1210, namun masih dalam batas aktif (nilai IC<sub>50</sub> ≤ 20 µg/mL) sebagai inhibitor terhadap pertumbuhan leukemia L1210. Berdasarkan data sitotoksitas, profil KLT, spektrum UV-VIS dan KCKT antara kontrol dengan sampel yang diradiasi menunjukkan bahwa dosis maksimum untuk iradiasi daun keladi tikus adalah 7,5 kGy.

**Kata kunci :** antikanker, kromatogram, keladi tikus, *Typhonium divaricatum* (L.) Decne

#### ABSTRACT

**Characteristics and Efficacy of Irradiated Keladi Tikus (*Typhonium divaricatum* (L.) Decne) Leaves.** *Keladi Tikus* (*Typhonium divaricatum* (L.) Decne), Araceae, is one of Indonesia plants that can inhibit cancer cell growth. Preservation techniques of herbal medicine using gamma irradiation has long been used to prolong shelf life, but only a little scientific data that study the effect of irradiation on the properties of them. In this study irradiation of *keladi tikus* leaves with a dose of 0, 5, 7.5, 10 and 15 kGy, followed by maceration of each with *n*-hexane, ethyl acetate and ethanol, respectively. Effects of gamma irradiation were studied by testing the inhibitory activity against the L1210 leukemia cell for the extracts, fractionation by column chromatography, analysis by TLC, spectrophotometer and HPLC. The result of cytotoxicity test against L1210 leukemia cells showed that the ethyl acetate extract of the most active potential as anticancer IC<sub>50</sub> value respectively 11.81 µg/ml. Result of fractionation of ethyl acetate extract were obtained by column chromatography with 6 fractions. Fraction 2 was the most active fraction with the lowest IC<sub>50</sub> value of 4.14 µg/ml.

Gamma irradiation dose of 15 kGy reduced the cytotoxic activity of fraction 2 against L1210 leukemia cells, but still within the active potent ( $IC_{50}$  values  $\leq 20 \mu\text{g/ml}$ ) as an inhibitor to the growth of leukemia L1210. Based on the cytotoxicity data, profiles of TLC, UV-VIS spectrum and HPLC between control and irradiated samples showed that the maximum dose for irradiation of *keladi tikus* leaves was 7.5 kGy.

**Keywords** : anticancer, chromatogram, *keladi tikus*, *Typhonium divaricatum* (L.) Decne

## PENDAHULUAN

Keladi tikus (*Typhonium divaricatum* (L.) Decne) suku Araceae merupakan salah satu tanaman obat Indonesia, berkhasiat membunuh atau menghambat pertumbuhan sel kanker, menekan efek negatif dari proses pengobatan modern (khemoterapi) seperti rambut rontok, napsu makan hilang, rasa mual dan rasa nyeri di tubuh, bersifat antivirus dan anti bakteri. Selain itu juga dapat digunakan untuk mengobati penyakit seperti koreng, borok, frambusia, dan menetralkan racun narkoba [1]. Keladi tikus mengandung terpenoid, flavonoid, stigmasterol, saponin, steroid atau triterpenoid dan kumarin. Senyawa yang aktif sebagai anti kanker yaitu senyawa terpenoid [2,3]. Saat ini penggunaan obat yang berasal dari tanaman telah diterima secara luas, mengingat penggunaan obat sintetik selain mahal juga memiliki efek samping yang merugikan dalam penggunaan jangka panjang. Penyakit yang belum dapat diobati secara optimal dengan pengobatan modern, mendorong usaha-usaha pengobatan melalui pemanfaatan obat tradisional. Seperti penderita penyakit kanker yang menduduki peringkat ke-3 di Indonesia [4], dapat memanfaatkan obat herbal berbahan dasar keladi tikus. Obat herbal tersebut telah tersedia dan banyak dijual sebagai salah satu obat kanker. Ekstrak non polar daun keladi tikus mempunyai aktivitas antiproliferasi terhadap sel leukemia P388 [5]. Ekstrak heksan, kloroform dan butanol menunjukkan efek sitotoksik yang tinggi pada sel kanker paru-paru manusia NCI-H23 dan kanker payudara T-47D dengan nilai  $IC_{50}$  kurang dari  $2 \mu\text{g/ml}$  [6]. Beberapa fraksi dari ekstrak heksan dan diklormetan aktif

menghambat pertumbuhan NCI-H23 dengan nilai  $IC_{50} < 15 \mu\text{g/ml}$ , salah satunya fraksi D/F21 mengandung asam heksadekanoid, 1-heksadecene, phytol, dan suatu derivat phytol [7]. Lai dkk telah menemukan empat senyawa *pheophorbide* (*pheophorbide-a*, *pheophorbide-a'*, *pyropheophorbide-a* and *methyl pyropheophorbide-a*) yang mempunyai aktivitas antiproliferasi terhadap sel kanker NCI-H23 dan HS578T, selain itu ditemukan juga senyawa asam heksadekanat, asam oleat, asam linoleat, asam linolenat, kampesterol, stigmasterol and  $\beta$ -sitosterol dalam keladi tikus [8]. Ekstrak diklormetan dari keladi tikus dapat menghambat pertumbuhan sel leukemia WEHI-3 [9].

Sebelum sampai ke konsumen, pengolahan bahan obat herbal perlu diperhatikan kebersihannya dari tahap paska panen sampai menjadi obat herbal yang higienis. Penanganan paska panen simplisia obat herbal bermacam-macam, salah satunya adalah dengan menggunakan iradiasi gamma untuk mengawetkan simplisia sehingga mengurangi jumlah mikroba dan memperpanjang lama simpan simplisia tersebut. Menurut PERMENKES 701/MENKES/PER/VIII/2009 bahwa dosis maksimum yang diijinkan untuk pengawetan simplisia tanaman obat adalah 10 kGy [10]. Pengawetan bahan alam dengan proses radiasi bertujuan untuk mencegah kerusakan oleh serangga, mikroba pembusuk, dan membebaskan dari kontaminasi mikroba patogen. Oleh sebab itu, iradiasi dapat juga untuk memperpanjang umur simpan komoditas yang mudah rusak dalam suatu penyimpanan di dalam kemasan [11]. Teknik iradiasi gamma untuk pengawetan simplisia telah digunakan oleh beberapa

perusahaan obat herbal, namun masih sedikit penelitian yang dilakukan untuk mengetahui apakah ada perubahan yang terjadi akibat iradiasi gamma terhadap khasiat obat herbal tersebut.

Pada penelitian ini dipelajari pengaruh iradiasi gamma terhadap khasiat aktivitas fraksi yang aktif daun keladi tikus yang berpotensi sebagai anti kanker. Salah satu cara penentuan sampel yang berkhasiat sebagai antikanker yang didasarkan atas adanya efek pada sel (sitotoksik) adalah dengan uji daya hambat terhadap pertumbuhan sel leukemia L1210. Selain itu dilakukan pula pengecekan profil kromatogram menggunakan KLT-Densitometri dan KCKT untuk mempelajari pengaruh iradiasi gamma terhadap stabilitas komponen-komponennya.

## BAHAN DAN METODE

**Bahan.** Simplisia yang digunakan dalam penelitian ini adalah keladi tikus *Typhonium divaricatum* (L.) Decne. yang telah dikeringkan, dihaluskan dan didapatkan dari Balai Penelitian Tanaman Obat dan Aromatik (BALITTRO) Bogor, Jawa Barat. Sebanyak 5 bungkus daun kering keladi tikus dengan berat masing-masing 100 g dilakukan duplo. Diradiasi gamma menggunakan sumber radiasi  $^{60}\text{Co}$  dengan dosis kontrol; 5; 7,5; 10; 15 kGy. Sampel diekstraksi secara maserasi menggunakan pelarut *n*-heksan, etil asetat dan metanol secara bertahap. Masing-masing ekstrak diuji aktivitas sitotoksik terhadap pertumbuhan sel leukemia L1210 secara *in vitro* dalam *multi well plate tissue's culture*. Kemudian dilanjutkan fraksinasi ekstrak yang paling aktif dengan kromatografi kolom, lalu fraksi-fraksi yang diperoleh diuji aktivitas sitotoksik terhadap pertumbuhan sel leukemia L1210, serta dilakukan pemeriksaan profil kromatogram dengan kromatografi lapis tipis (KLT)-Densitometri dan kromatografi cair kinerja tinggi (KCKT).

**Peralatan.** Peralatan yang digunakan yaitu Iradiator Karet Alam dengan sumber

$^{60}\text{Co}$ , kromatografi cair kinerja tinggi (Shimadzu LC 9-A), spektrofotometer uv-vis HP 8453, densitometer, penguap putar vakum (Buchi), inkubator, oven (Prolabo), otoklaf, desikator hampa, lampu UV (254 nm), alat kromatografi lapis tipis, *multi well plate tissue's culture*, *haemocytometer Neubauer improved*, *hot plate*, pencuci ultrasonik, timbangan analitik dan alat-alat gelas.

**Penyiapan Bahan.** Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun keladi tikus yang telah dideterminasi di Herbanium Bogoriense, Bogor. Daun kering dihaluskan menjadi serbuk dan disimpan dalam wadah yang tertutup rapat.

**Iradiasi Gamma.** Serbuk daun keladi tikus masing-masing seberat 100 gram untuk setiap perlakuan dosis radiasi dimasukkan ke dalam kantong plastik polietilen yang ditutup rapat dengan *sealer matic*. Kemudian diiradiasi pada dosis 5 kGy, 7,5 kGy, 10 kGy, dan 15 kGy masing-masing dosis dilakukan 2 kali ulangan dengan sumber radiasi  $^{60}\text{Co}$ . Aktivitas sumber  $^{60}\text{Co}$  114,6 kCi pada bulan Juni 2010 dengan laju dosis 7,5kGy/jam.

**Pembuatan ekstrak dan Fraksinasi.** Sebanyak 100 gram serbuk daun tanpa iradiasi dan yang telah diiradiasi pada dosis bervariasi diekstrak secara maserasi 3 kali dengan pelarut etil asetat masing-masing 2 liter selama 48 jam pada suhu kamar. Filtrat disaring dan diuapkan dengan penguap putar vakum untuk mendapatkan ekstrak kering. Ekstrak yang diperoleh disimpan pada wadah yang bersih dan dalam *freezer*. Ekstrak etil asetat dari sampel yang tidak dan yang diradiasi masing-masing 1,0 gram difraksinasi dengan kolom kromatografi berisi silika gel 60 menggunakan eluen *n*-heksan - etilasetat (3:1, 2:1, 1:1), dan etil asetat - metanol (20:1, 1:1). Eluen masing-masing kurang lebih 150 ml dan diperoleh 6 fraksi, setiap fraksi dikeringkan dan disimpan dalam wadah yang bersih. Kemudian terhadap tiap fraksi dilakukan pemeriksaan KLT.

**Analisis Kromatografi Lapis Tipis.** Masing-masing fraksi ditotolkan dengan

menggunakan pipa kapiler pada lempeng kromatografi dengan konsentrasi yang sama (10 µg). Dengan variasi eluen yang digunakan adalah *n*-heksan dan etil asetat (1:1, 3:1, 7:1). Fase diam yang digunakan adalah lempeng silika gel GF<sub>254</sub> nm. Setelah itu bercak diamati dan ditandai di bawah sinar UV 254 nm. Kemudian lempeng disemprot dengan pereaksi 1% serum sulfat dalam 10% H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, lalu dikeringkan di atas pemanas listrik (*hot plate*) hingga terbentuk bercak yang tetap.

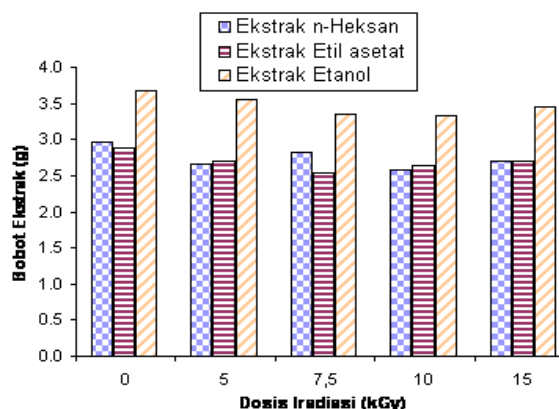
**Identifikasi Spektrofotometri Ultra-violet-Cahaya Tampak.** Fraksi 2 yang diperoleh diukur dengan spektrofotometri ultraviolet-cahaya tampak sehingga diperoleh panjang gelombang maksimum dari serapan maksimum senyawa tersebut dengan menggunakan pelarut etil asetat.

**Analisis Kromatografi Cair Kinerja Tinggi.** Fraksi 2 dengan konsentrasi 3,0 mg / 5 ml dianalisis dengan menggunakan Kromatografi Cair Kinerja Tinggi dengan detektor ultraviolet - visible 275 nm, kolom Silika gel (250 x 10 mm), fase gerak *n*-heksan : etil asetat (10:1), kecepatan alir 2,0 ml/menit, suhu 25°C, volume injeksi 50 µl dan konsentrasi sampel 3 mg / 5 ml.

**Uji Aktivitas Sitotoksik Ekstrak atau Fraksi terhadap Sel Leukemia L1210.** Sel leukemia L1210 yang digunakan adalah satu galur (strain) berasal dari limfa tikus yang telah diinokulasi dengan sel leukemia L1210. Sel leukemia L1210 berasal dari limpa tikus strain DBA yang diinduksi menggunakan metilkolantren. Persediaan sel yang digunakan dalam uji ini diperoleh dari Laboratorium Kimia PATIR - BATAN yang mulanya berasal dari *The Institute of Physical and Chemical Research Jepang*. Ekstrak dan fraksi-fraksi yang diperoleh diuji daya hambatnya. Untuk ekstrak dilakukan dengan variasi dosis 5 µg/ml, 10 µg/ml, 20 µg/ml, 40 µg/ml, 80 µg/ml sedangkan fraksi dengan variasi dosis 1 µg/ml, 2 µg/ml, 4 µg/ml, 8 µg/ml, 16 µg/ml. Pengujian aktivitas sitotoksik ini dilakukan secara *in vitro* berdasarkan pewarnaan dengan larutan *tryphan blue* [12].

## HASIL DAN PEMBAHASAN

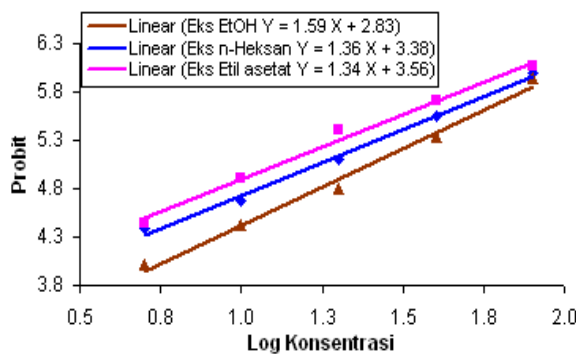
**Ekstrak dari Simplisia Daun Keladi Tikus yang Diradiasi dan Tanpa Radiasi.** Hasil ekstraksi (*n*-heksan, etil asetat dan etanol) dari 100 g serbuk kering daun keladi tikus (*Typhonium divaricatum* (L.) Decne) kontrol dan yang diradiasi ditampilkan pada Gambar 1. Ekstrak *n*-heksan berwarna kuning dengan bobot dari 2,58 sampai 2,96 g, ekstrak etil asetat berwarna hijau dari 2,54 sampai 2,89 g dan ekstrak etanol berwarna coklat dari 3,34 sampai 3,68 g. Dari hasil ekstraksi *n*-heksan, etil asetat dan etanol daun keladi tikus bobot ekstrak sebelum dan setelah iradiasi tidak mengalami perubahan, dengan demikian radiasi gamma tidak mempengaruhi bobot ekstrak.



**Gambar 1.** Bobot ekstrak *n*-heksan, etil asetat dan etanol daun keladi kontrol dan yang diradiasi

**Aktivitas Sitotoksik Ekstrak Terhadap Sel Leukemia L1210.** Pada skrining awal untuk mengetahui ekstrak paling aktif dari tanaman daun keladi tikus hanya dilakukan terhadap sampel daun keladi tikus yang tidak diradiasi. Hasil uji aktivitas ekstrak *n*-heksan, etil asetat dan etanol sebagai inhibitor pertumbuhan sel leukemia L1210 diperlihatkan pada Gambar 2. Berdasarkan nilai persentase inhibisi yang diplotkan pada tabel probit, lalu diperoleh persamaan regresi linier  $y = a + bx$  (log konsentrasi (x) dan probit dari persentase inhibisi (y)). Pada nilai  $y = 5$  (probit dari

50), maka diperoleh nilai  $IC_{50}$  tertera pada Tabel 1. Ketiga macam ekstrak tersebut mempunyai aktivitas sebagai inhibitor terhadap pertumbuhan sel leukemia L1210 dengan nilai  $IC_{50}$  masing-masing ekstrak *n*-heksan 15,76  $\mu\text{g/mL}$ , etil asetat 11,81  $\mu\text{g/mL}$  dan etanol 23,04  $\mu\text{g/mL}$ . Ekstrak dengan nilai  $IC_{50}$  terendah merupakan ekstrak yang memiliki aktivitas sitotoksik paling aktif yaitu ekstrak etil asetat daun keladi tikus ( $IC_{50}$  11,81  $\mu\text{g/mL}$ ). Ekstrak dinyatakan memiliki aktivitas sitotoksik jika nilai Nilai  $IC_{50} \leq 20 \mu\text{g/mL}$  [13]. Kemudian ekstrak etil asetat difraksinasi lebih lanjut dengan menggunakan kromatografi kolom.



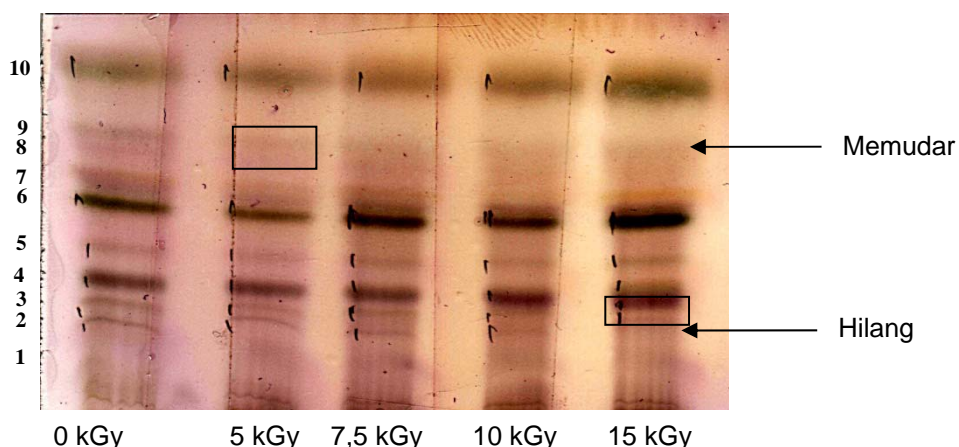
**Gambar 2.** Grafik antara log konsentrasi dan aktivitas inhibisi (probit) ekstrak *n*-heksan, etil asetat dan etanol

**Tabel 1.** Hasil uji aktivitas pada ekstrak sampel kontrol sebagai inhibitor pertumbuhan sel leukemia L1210

Ekstrak	$IC_{50}$ ( $\mu\text{g/ml}$ )
<i>n</i> -heksan	15,76
Etil asetat	11,81
Etanol	23,04

**Kromatografi Lapis Tipis Ekstrak Etil Asetat Sebagai Inhibitor.** Hasil kromatografi lapis tipis ekstrak aktif yaitu ekstrak etil asetat ditunjukkan pada Gambar 3. Ekstrak etil asetat memiliki sedikitnya 10 bercak dengan bercak 4, 6 dan bercak 10 yang merupakan komponen mayor (bercak yang mempunyai pola bercak paling tebal). Pada daun keladi tikus yang diiradiasi dengan dosis 5 dan 7,5 kGy pola bercaknya identik dengan kontrol, artinya tidak ada perubahan profil bercaknya. Pada dosis radiasi 10 dan 15 kGy bercak 2, 8 dan 9 warnanya memudar. Hal ini diduga karena iradiasi gamma menyebabkan komponen-komponen dalam daun keladi tikus mengalami perubahan/degradasi pada ikatan kimia atau gugus fungsinya.

**Fraksinasi Ekstrak Etil Asetat Daun Keladi Tikus.** Fraksinasi ekstrak etil asetat daun keladi tikus dari sampel kontrol



**Gambar 3.** Pola kromatogram hasil KLT ekstrak etil asetat

Keterangan :

Fase gerak : kloroform - metanol (5:1)

Fase diam : silika gel  $GF_{254}$

Deteksi : sinar UV 254 nm

Penampak bercak : 1% serum sulfat dalam 10% asam sulfat

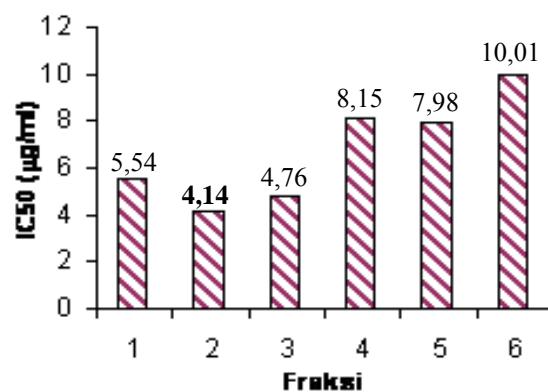
**Tabel 2.** Rendemen (%) hasil fraksinasi ekstrak etil asetat

Ekstrak	Warna	Rendemen (%)				
		0 kGy	5 kGy	7,5 kGy	10 kGy	15 kGy
Fraksi 1	Kuning kehijauan	0,09	0,07	0,12	0,09	0,08
Fraksi 2	Hijau muda	0,18	0,19	0,17	0,16	0,20
Fraksi 3	Hijau Tua	0,10	0,08	0,08	0,09	0,07
Fraksi 4	Hijau Tua	0,13	0,11	0,12	0,13	0,12
Fraksi 5	Hijau kecoklatan	0,10	0,09	0,08	0,08	0,08
Fraksi 6	Coklat tua	0,13	0,17	0,11	0,14	0,12

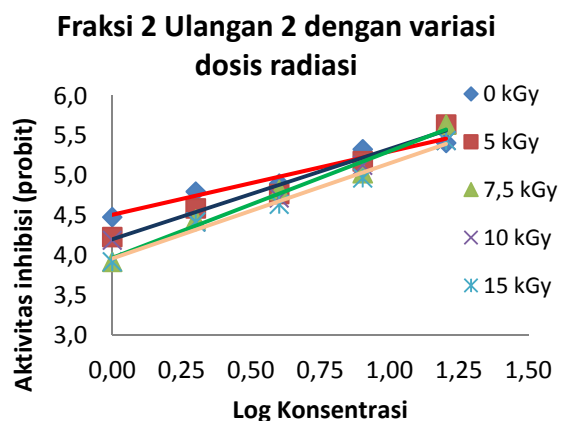
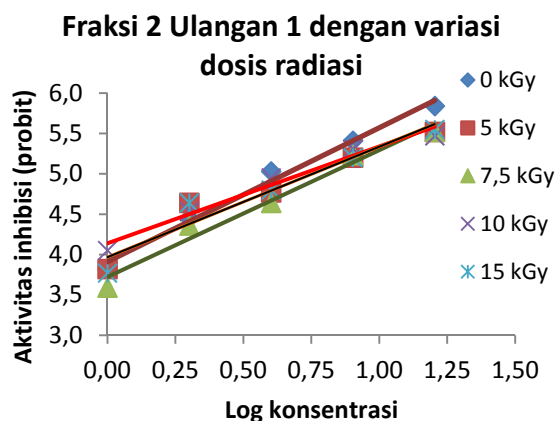
maupun yang diradiasi pada berbagai variasi dosis dilakukan menggunakan kromatografi kolom, setelah dipekatkan dan digabungkan berdasarkan pola bercak diperoleh 6 fraksi seperti di sajikan pada Tabel 2. Pada umumnya masing-masing fraksi sedikit mengalami penurunan bobot setelah diradiasi. Fraksi 1 (7,5 kGy), fraksi 6 (5 kGy dan 10 kGy) mengalami kenaikan bobot, hal ini diduga pengaruh iradiasi menyebabkan molekul-molekul besar terdegradasi menjadi lebih kecil, sehingga saat daun keladi tikus dimaserasi menjadi lebih mudah terekstrak ke dalam pelarut.

**Aktivitas Fraksi Sebagai Inhibitor Pertumbuhan Sel Leukemia L1210.** Uji aktivitas fraksi-fraksi terhadap sel leukemia L1210 hanya dilakukan dari sampel daun keladi tikus yang tidak diradiasi untuk mengetahui fraksi yang paling aktif. Pada Gambar 4 terlihat bahwa keenam fraksi tersebut mempunyai aktivitas sebagai

inhibitor sel leukemia L1210 dengan nilai  $IC_{50}$  berturut - turut dari fraksi 1 s.d. fraksi 6 adalah  $IC_{50}$  5,54  $\mu\text{g/ml}$ ;  $IC_{50}$  4,14  $\mu\text{g/ml}$ ;  $IC_{50}$  4,76  $\mu\text{g/ml}$ ;  $IC_{50}$  8,15  $\mu\text{g/ml}$ ;  $IC_{50}$  7,98  $\mu\text{g/ml}$ ;  $IC_{50}$  10,01  $\mu\text{g/ml}$ .



**Gambar 4.** Diagram nilai  $IC_{50}$  fraksi-fraksi dari ekstrak etil asetat daun keladi tikus control



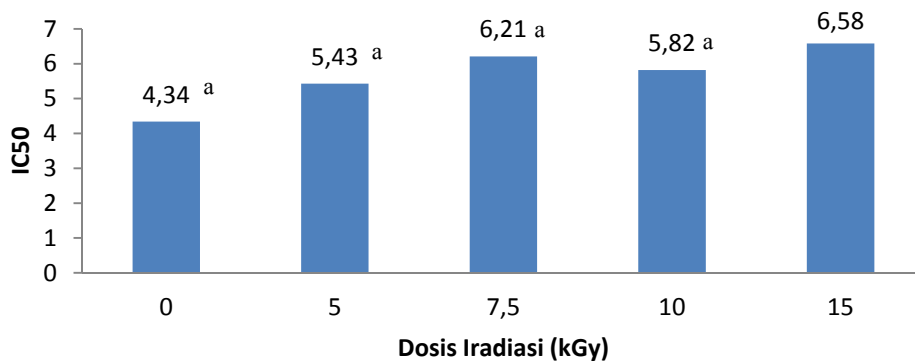
**Gambar 5.** Grafik antara Log Konsentrasi dan Probit fraksi 2

Diantara fraksi tersebut, fraksi 2 merupakan fraksi paling aktif dengan nilai  $IC_{50}$  terendah yaitu: 4,14  $\mu\text{g/mL}$ . Berdasarkan nilai  $IC_{50}$  tersebut, maka hanya fraksi 2 dari daun keladi tikus dianalisis lebih lanjut.

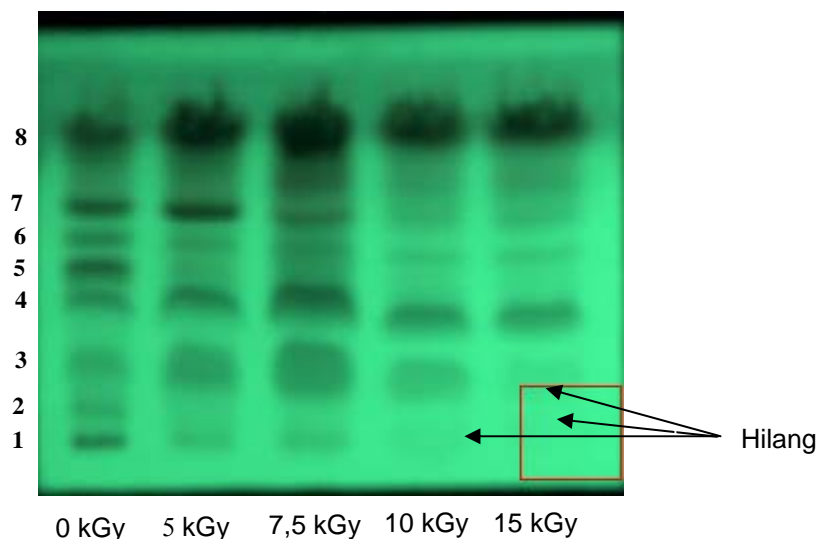
**Aktivitas Sitotoksik Fraksi 2 dari Ekstrak Etil Asetat Daun Keladi Tikus.** Hasil uji aktivitas fraksi paling aktif (fraksi 2) sebagai inhibitor pertumbuhan sel leukemia L1210 dilakukan pada sampel kontrol dan yang diradiasi. Data dan hasil

perhitungan uji aktivitas fraksi 2 dapat dilihat pada Gambar 5. Berdasarkan persamaan regresi linier yang diperoleh, maka nilai  $IC_{50}$  fraksi 2 rata-rata dapat dihitung dan disajikan pada Tabel 3.

Aktivitas fraksi 2 pada berbagai dosis iradiasi menunjukkan bahwa fraksi-fraksi tersebut aktif menghambat pertumbuhan sel leukemia L1210. Nilai  $IC_{50} \leq 20 \mu\text{g/ml}$  dikategorikan aktif berpotensi sebagai antikanker (13). Nilai  $IC_{50}$  fraksi 2 sampel kontrol 4,34  $\mu\text{g/ml}$  cenderung meningkat



**Gambar 6.** Diagram hubungan dosis iradiasi dan  $IC_{50}$  rata-rata fraksi 2. Angka dengan notasi huruf yang sama tidak berbeda nyata



**Gambar 7.** Kromatogram lapis tipis ( $\lambda$  254 nm) Fraksi 2 dengan variasi dosis radiasi

Fase gerak : kloroform-metanol (3:1)

Fase diam : silika gel  $GF_{254}$

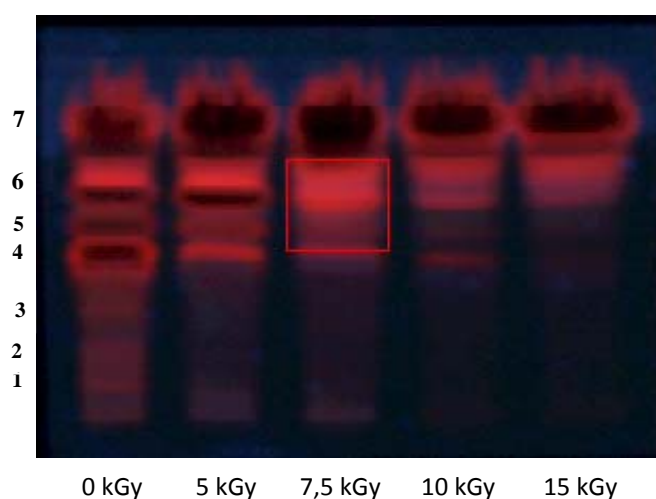
Deteksi : sinar uv 254 nm

seiring meningkatnya dosis iradiasi, pada sampel yang diradiasi 15 kGy nilai  $IC_{50}$  menjadi 6,58  $\mu\text{g/ml}$ . Hal ini menunjukkan bahwa iradiasi gamma dapat menurunkan aktivitas sitotoksik simplisia.

Hasil analisis statistik fraksi 2 ulangan 1 dan ulangan 2 dari berbagai dosis iradiasi (Tabel 4 dan 5) dengan uji anova satu arah menggunakan SPSS 16.0 pada taraf kepercayaan 95% ( $\alpha=0,05$ ) menunjukkan bahwa tidak ada perbedaan  $IC_{50}$  yang nyata antara fraksi 2 kontrol dan yang diiradiasi.

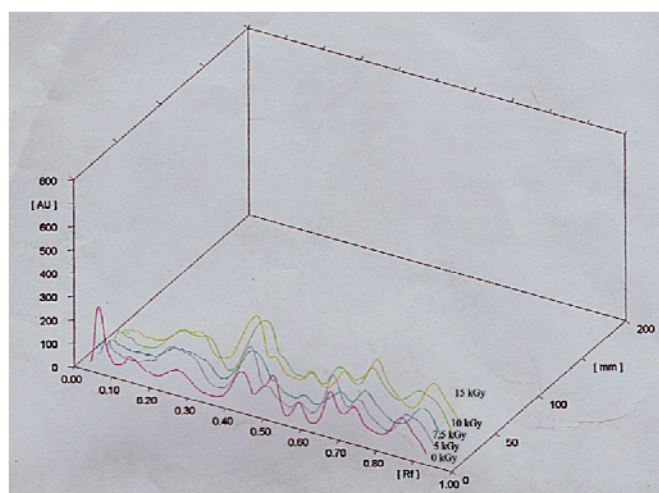
Terjadi penurunan aktivitas sitotoksik dengan penambahan dosis radiasi yang dimungkinkan karena efek langsung radiasi pada materi berupa ionisasi pada materi tersebut dimana semakin besar dosis yang diberikan akan semakin besar daya ionisasinya sehingga akan menyebabkan terjadi perubahan fisika dan kimia yang dapat menyebabkan semakin menurun aktivitas senyawa tersebut.

***KLT Fraksi Yang Paling Aktif (Fraksi 2).*** Hasil analisis kualitatif densitometri pada



**Gambar 8.** Kromatogram lapis tipis ( $\lambda$  366 nm) Fraksi 2 dengan variasi dosis radiasi

Fase gerak : kloroform-metanol (3:1)  
Fase diam : silika gel GF<sub>254</sub>  
Deteksi : sinar uv 366 nm



**Gambar 9.** Profil 3D serapan pada panjang gelombang 210 nm fraksi 2 ekstrak daun keladi tikus



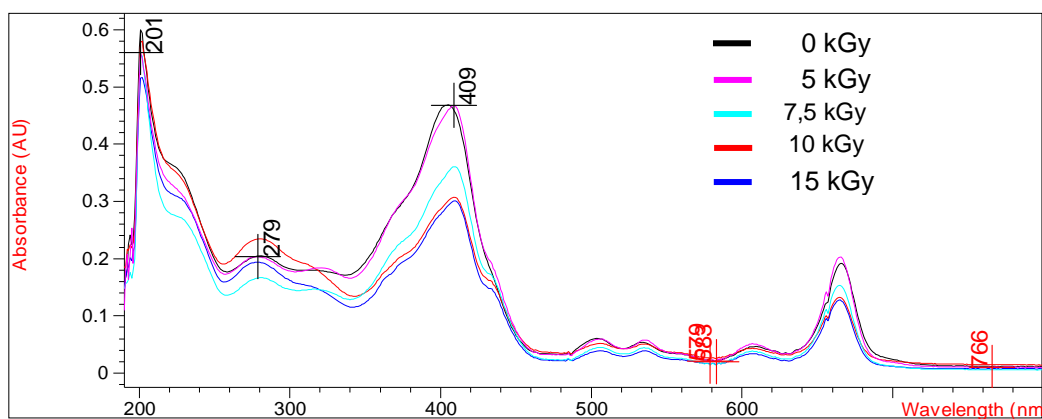
$\lambda$  254 nm dari sampel daun keladi tikus kontrol dan yang diiradiasi ditampilkan pada (Gambar 7) dan  $\lambda$  366 nm (Gambar 8). Pada dosis 0 kGy (kontrol) ada sedikitnya 7 bercak komponen dengan bercak 4, 6 dan bercak 7 merupakan komponen mayor. pada dosis radiasi 10 dan 15 kGy bercak 2 dan 4 tidak muncul. Hal ini diduga iradiasi menyebabkan komponen senyawa mengalami degradasi menjadi senyawa lain.

**Analisis Fraksi 2 Dengan KLT-Densitometri.** Hasil identifikasi fraksi 2 dengan variasi dosis iradiasi menggunakan KLT densitometri pada panjang gelombang maksimum 210 menunjukkan ada 10 profil atau puncak. Profil-profil tersebut dibandingkan antara kontrol tanpa proses iradiasi dengan yang mengalami proses iradiasi. Kromatogram KLT - Densitometri fraksi 2 diperlihatkan pada profil Gambar 9

dan luas area pada Tabel 3. Berdasarkan profil atau puncak diatas terdapat perbedaan pada tinggi puncak atau Rf dan luas bercak antara kontrol dengan yang mengalami proses iradiasi dosis iradiasi 5 kGy; 7,5 kGy; 10 kGy dan 15 kGy. Adanya perbedaan tinggi puncak atau Rf dan luas diduga karena efek dari iradiasi. Berdasarkan KLT-Densitometri diperoleh profil serapan daun keladi tikus pada panjang gelombang 210 nm menunjukkan adanya perbedaan pada tinggi puncak serapan dan luas area dan kecenderungannya akan menurunkan luas area akibat pengaruh iradiasi, tetapi ada juga yang profil serapan dan luas area yang mengalami kenaikan dimungkinkan karena efek iradiasi tidak langsung sehingga membentuk radikal bebas yang berinteraksi dengan materi dan membentuk senyawa baru.

**Tabel 3.** Data KLT-densitometri

Bercak	Rf	Luas area				
		0	5	7,5	10	15
1	0,02-0,03	4031	1338,5	676,1	668,6	153,5
2	0,09-0,16	1942,8	7210,5	2384,1	5232,5	4399,2
3	0,20-0,29	2721,5	0	2624,2	3565,6	7842,6
4	0,32-0,41	4069,2	6680,6	7134,4	13748,9	1196,8
5	0,46-0,49	4332,1	1119,9	0	0	900,1
6	0,52-0,54	1183,6	482,9	389,9	1986,7	0
7	0,55-0,58	0	5108,8	2566,1	5500,3	2388,6
8	0,61-0,63	3757,9	0	0	0	7390,8
9	0,66-0,69	3845,1	3742,9	4355,5	7719,7	0
10	0,77-0,80	4761,5	4582,8	4148,8	7699	5654,2

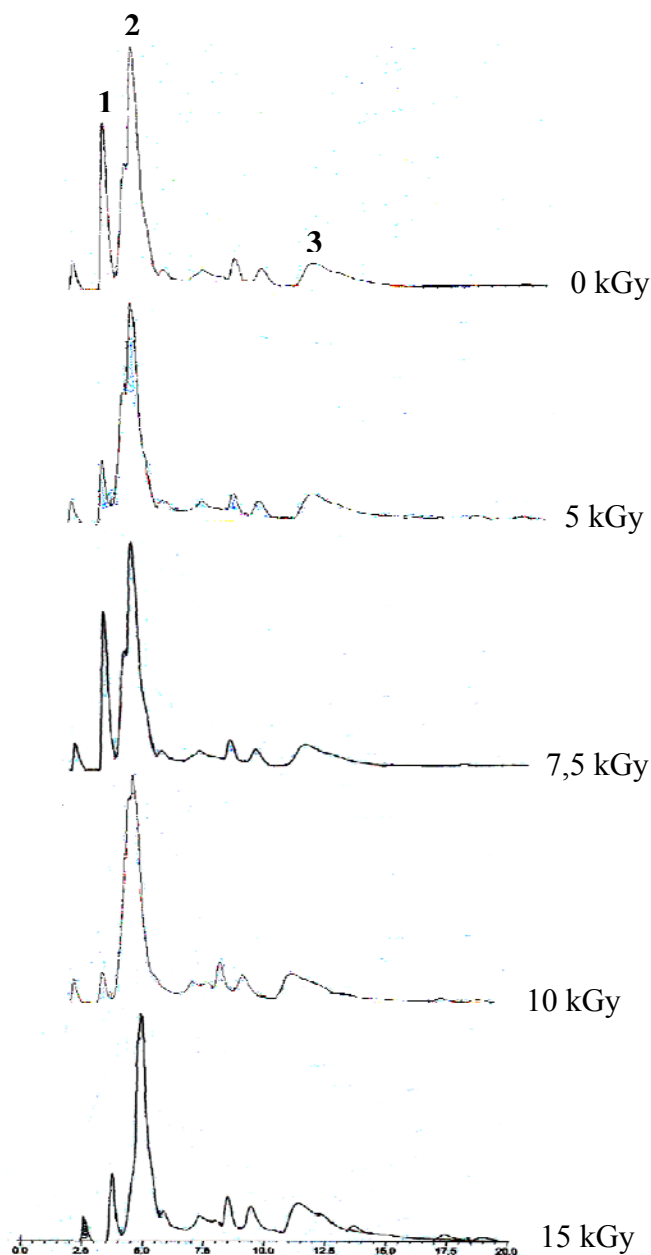


**Gambar 10.** Spektrum serapan ultra violet - cahaya tampak fraksi 2

**Spektrofotometri UV-VIS.** Hasil pengukuran serapan ultra violet – cahaya tampak dari fraksi 2 dalam pelarut metanol memberikan serapan maksimum pada panjang gelombang 201 nm, 279 nm, 409 nm dan 666 nm (Gambar 10 dan Tabel 5). Berdasarkan data spektrofotometri cahaya-tampak pada panjang gelombang maksimum, terjadi penurunan serapan. Hal ini diduga karena pengaruh iradiasi gamma

yang menyebabkan komponen senyawa mengalami perubahan/degradasi.

**Analisis Fraksi 2 dengan KCKT.** Hasil analisis fraksi 2 ulangan 1 dan ulangan 2 pada berbagai dosis iradiasi menggunakan KCKT menunjukkan 3 puncak mayor yaitu pada waktu retensi 3,7 menit (puncak 1), 4, menit (puncak 2) dan 11,5 menit (puncak 3). Kromatogram KCKT fraksi 2 dari daun keladi tikus yang diradiasi dan tidak



**Gambar 11.** Kromatogram KCKT fraksi 2

**Tabel 4.** Luas area puncak 2 dari fraksi 2

Dosis (kGy)	Area
0	435752.5 <sup>a</sup>
5	388188.5 <sup>ab</sup>
7,5	383785.3 <sup>b</sup>
10	306262.5 <sup>c</sup>
15	239640.3 <sup>d</sup>

**Tabel 5.** Data panjang gelombang dan absorban fraksi 2

No.	Dosis Iradiasi (kGy)	201 nm (abs)	279 nm (abs)	409 nm (abs)	666 nm (abs)	210 nm (abs)
1	0 kGy	0.600	0.205	0.469	0.192	0.427
2	5 kGy	0.560	0.203	0.459	0.202	0.406
3	7,5 kGy	0.578	0.235	0.301	0.131	0.438
4	10 kGy	0.515	0.193	0.293	0.127	0.393
5	15 kGy	0.555	0.167	0.352	0.152	0.367

diradiasi diperlihatkan dengan lengkap pada Gambar 10. Luas puncak 2 dipakai sebagai marker disajikan pada Tabel 4. Pada dosis 7,5 kGy luas area puncak fraksi 2 menurun, berdasarkan hasil analisis Anova menunjukkan adanya perubahan luas area yang bermakna dibandingkan dengan fraksi 2 dari sampel yang tidak diradiasi. Demikian juga serapan fraksi 2 dari daun keladi tikus yang diiradiasi 7,5 kGy mengalami penurunan. Namun nilai  $IC_{50}$  pada Gambar 6 dan KLT pada Gambar 7 dan 8, aktivitas sitotoksik dan kromatogram fraksi 2 tidak menunjukkan perubahan. Jadi berdasarkan data-data yang diperoleh tersebut maka dosis 7,5 kGy aman dan dapat digunakan untuk pengawetan daun keladi tikus tanpa mengubah aktivitas sitotoksiknya.

## KESIMPULAN

Hasil uji aktivitas ekstrak *n*-heksan, etil asetat, dan etanol dari daun keladi tikus (*Typhonium divaricatum* (L.) Decne.) menunjukkan bahwa ekstrak etil asetat mempunyai aktivitas tertinggi sebagai inhibitor pertumbuhan sel leukemia L1210 dengan nilai  $IC_{50}$  sebesar 11,81  $\mu\text{g/mL}$ . Pada fraksinasi ekstrak etil asetat daun keladi

tikus diperoleh 6 fraksi. Fraksi 2 merupakan fraksi paling aktif sebagai inhibitor pertumbuhan sel leukemia L1210 dengan nilai  $IC_{50}$  sebesar 4,34  $\mu\text{g/mL}$ . Berdasarkan data sitotoksitas, profil KLT, spektrum UV-VIS dan KCKT antara kontrol dengan sampel yang diradiasi menunjukkan bahwa dosis maksimum untuk iradiasi daun keladi tikus adalah 7,5 kGy.

## UCAPAN TERIMAKASIH

Penulis mengucapkan terimakasih kepada seluruh staf Iradiator, BIEI, PATIR-BATAN yang telah membantu iradiasi daun keladi tikus.

## DAFTAR PUSTAKA

- HARIANA, A., Tumbuhan obat dan khasiatnya, Seri 2, Jakarta, Penebar Swadaya, 23-24 (2008).
- PALUPI, D. Isolasi identifikasi dan uji hayati salah satu kandungan kimia dalam fraksi *n*-heksan dari ekstrak metanol herba keladi tikus (*Typhonium*

- divaricatum* (L.) Decne.) Araceae, Jakarta, Fakultas Farmasi Universitas Pancasila 41-46 (2005).
3. HANDOKO, B.J.F., Karakterisasi dan uji hayati pendahuluan metabolit sekunder aktif dari fraksi etil asetat umbi keladi tikus (*Typhonium divaricatum* (L.) Decne.), Jakarta, Fakultas Farmasi Universitas Pancasila 36-46 (2005).
  4. MARIONO, S.A., Jusuf A dan Kresno SB., Karakteristik kandungan DNA dan aktivitas proliferasi pada kanker paru di Jakarta, *Cermin Dunia Kedokteran*, 127:15-17 (2002).
  5. CHOO, C.Y., CHAN, K.L., TAKEYA, K., and ITOKAWA, H., Cytotoxic activity of *Typhonium flagelliforme* (Araceae), *Phytotherapy Research*, 77: 260-2 (2001).
  6. CHAN, L.K., KOH, W.Y., and TENGGU, S.T.M., Comparison of cytotoxic activities between *in vitro* and field grown plants of *Typhonium flagelliforme* (Lodd.) blume, *Journal of Plant Biology*, 48 (1): 25-31 (2005).
  7. LAI, C.S., *Typhonium flagelliforme* inhibits cancer cell growth *in vitro* and induces apoptosis : an evaluation by bioactivity guided approach, *Journal of Ethnopharmacology*, 118 (1): 14-20 (2008).
  8. LAI, C.S., MAS, H.M.H., NAIR, N.K., MANSOR, S.M., and NAVARATNAM, V., Chemical constituents and *in vitro* anticancer activity of *Typhonium flagelliforme* (Araceae), *Journal of Ethnopharmacology*, 127 (2): 486-94 (2010).
  9. MOHAN, S., *et al.* *Typhonium flagelliforme* inhibits the proliferation of murine leukemia WEHI-3 cells *in vitro* and induces apoptosis *in vivo*. *Leukemia Research* 34 (11): 1483-1492 (2010).
  10. DEPKES RI, Keputusan Menteri Kesehatan Republik Indonesia No. 701/MENKES/PER/VIII/2009 tentang Pangan Iradiasi (2009), 4.
  11. IRAWATI, Z., Pengembangan Teknologi Nuklir untuk Meningkatkan Keamanan dan Daya Simpan Bahan Pangan, *Jurnal Aplikasi Isotop dan Radiasi*, 3 (2): 48 (2007).
  12. WINARNO, E.K., SELVIE, WINARNO, H., Chromatogram profiles and cytotoxic activity of irradiated *Mahkota Dewa* (*Phaleria macrocarpa* (Scheff) Boerl.) leaves, *Atom Indonesia*, 37 (1): 17-23 (2011).
  13. SWANSON, S.M. and PREZZUTO, J.M., Bioscreening technique for cytotoxic potential and ability to inhibit macromolecule biosynthesis, in: Thompson EB (ed) *Drug Bioscreening: Drug Evolution Techniques in Pharmacology*, New York, VCH Publisher Inc., 273-295 (1990).