

BAB IV

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

1. Determinasi tanaman keladi tikus

Determinasi tanaman keladi tikus dilakukan di Laboratorium Biologi, Universitas Sebelas Maret Surakarta. Berdasarkan hasil determinasi tanaman menunjukkan bahwa tanaman yang digunakan dalam penelitian ini adalah tanaman keladi tikus (*Typhonium flagelliforme (L.)*). Deskripsi lengkap determinasi tanaman keladi tikus dapat dilihat pada Lampiran 1 dengan nomor determinasi 229/UN27.9.6.4/Lab/2018.

2. Pengumpulan, pengeringan bahan, dan pembuatan serbuk

Tanaman keladi tikus yang akan digunakan merupakan tanaman yang matang dengan ciri daun dan batang berwarna hijau tua, terdapat umbi dan telah tumbuh bunga kemudian dilakukan sortasi basah guna memilih tanaman dengan kualitas yang baik lalu dilakukan pencucian. Tanaman dirajang dan dikeringkan lalu dilakukan sortasi kering untuk memisahkan sampel dengan pengotor. Proses pencucian bertujuan untuk menghilangkan tanah dan debu yang terbawa oleh sampel. Perajangan pada tanaman keladi tikus bertujuan untuk memperkecil ukuran sampel sehingga lebih cepat dalam proses pengeringannya. Proses pengeringan bertujuan untuk mengurangi kadar air pada sampel sehingga proses kimiawi dapat terhenti dan mencegah kerusakan akibat bakteri dan jamur. Data rendemen berat tanaman keladi tikus dapat dilihat pada Tabel 1 dan perhitungan lengkap rendemen tanaman keladi tikus kering dapat dilihat pada Lampiran 4.

Tabel 1. Hasil perhitungan rendemen tanaman keladi tikus

Berat basah (gram)	Berat kering (gram)	Rendemen (%)
15.000	1.610	7,73

3. Pemeriksaan organoleptis serbuk tanaman keladi tikus

Proses pembuatan serbuk bertujuan untuk memperkecil ukuran partikel sampel dan memperluas permukaan sehingga pada saat ekstraksi berlangsung dapat meningkatkan kontak antara pelarut dan serbuk sampel, sehingga zat yang

terekstrak dapat ditarik dengan maksimal. Serbuk yang diperoleh selanjutnya diperiksa secara organoleptis yang dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 1. Hasil pemeriksaan organoleptis serbuk keladi tikus

Organoleptis	Hasil
Bentuk	Serbuk halus
Warna	Hijau kecoklatan
Bau	Khas keladi tikus
Rasa	Agak sepat

Hasil pemeriksaan organoleptis serbuk tersebut menunjukkan bahwa simplisia yang digunakan benar merupakan tanaman keladi tikus karena sesuai dengan ciri organoleptis yang tertera pada literatur.

4. Penetapan susut pengeringan serbuk

Penetapan susut pengeringan dalam penelitian ini dilakukan pada serbuk keladi tikus. Tujuan dilakukan susut pengeringan pada serbuk simplisia adalah memberikan batasan maksimal (rentang) tentang besarnya senyawa yang hilang pada proses pengeringan. Pengujian dilakukan Laboratorium Teknologi Farmasi Universitas Setia Budi. Hasil penetapan susut pengeringan serbuk keladi tikus dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 2. Hasil penetapan susut pengeringan serbuk keladi tikus

Berat awal (g)	Berat akhir (g)	Kadar susut pengeringan (%)
2,04	1,89	9,5
2,03	1,92	9,9
2,06	1,88	8,9
Rata-rata		9,43

Berdasarkan data pada tabel 3 rata-rata susut pengeringan serbuk keladi tikus sebesar 9,43%. Hal ini menunjukkan susut pengeringan serbuk keladi tikus memenuhi syarat dimana kadar air suatu serbuk simplisia <10%, yang memungkinkan terhentinya proses enzimatis pada sampel dan dengan kadar air yang rendah dapat menghindarkan sampel dari adanya pembusukan oleh bakteri maupun jamur (Prasetyo & Inorihah 2013).

5. Penetapan kadar air

Penetapan kadar air serbuk keladi tikus dilakukan dengan menggunakan alat *Sterling-Bidwell* dengan serbuk sebanyak 20 gram dan menggunakan pelarut

toluen jenuh air kurang lebih 200 ml hingga sampel terendam kemudian dipanaskan dengan menggunakan spirtus. Penetapan kadar air bertujuan untuk menghindari kontaminasi dari kapang atau jamur yang dapat mempengaruhi stabilitas dari sampel.

Replikasi	Berat awal (g)	Volume air (ml)	Kadar (%)
1	20,037	1,8	8,98
2	20,041	1,6	7,98
3	20,031	1,7	8,49
Rata-rata			8,48

Hasil penetapan kadar air yang diperoleh memenuhi syarat pada monografi keladi tikus pada Farmakope Herbal Indonesia (FHI) yaitu kurang dari 11% (Depkes 2008). Kadar air kurang dari 11% dapat menghentikan reaksi enzimatik dan pertumbuhan jamur.

6. Pembuatan ekstrak etanol tanaman keladi tikus

Pembuatan ekstrak etanol tanaman keladi tikus dilakukan di Laboratorium Fitokimia Universitas Setia Budi dengan menggunakan metode maserasi. Metode maserasi dipilih karena dalam tanaman keladi tikus terdapat kandungan flavonoid yang sifatnya tidak tahan terhadap pemanasan. Metode ini digunakan untuk penyarian simplisia yang mengandung bahan aktif yang mudah larut dalam pelarut dan tidak mudah mengembang dalam cairan penyari. Prinsip maserasi adalah pengikatan/pelarutan zat aktif berdasarkan sifat kelarutannya dalam suatu pelarut (*like dissolved like*). Kelebihan metode maserasi dibanding dengan metode lain adalah alat yang diperlukan sederhana dan langkah kerja yang mudah untuk dilakukan, juga hemat biaya operasionalnya (Voigt 1994).

Etanol 96% dipilih karena merupakan pelarut serba guna (*universal*) yang baik untuk ekstraksi pendahuluan (Harborne 1987). Hasil yang diperoleh berupa ekstrak kental berwarna hijau pekat kecoklatan dengan bau yang khas. Data rendemen ekstrak tanaman keladi tikus dapat dilihat pada Tabel 4 dan hasil pemeriksaan organoleptis ekstrak dapat dilihat pada Tabel 5. Perhitungan rendemen ekstrak etanol keladi tikus dapat dilihat pada lampiran 4.

Tabel 3. Hasil perhitungan rendemen ekstrak tanaman keladi tikus

Berat serbuk (gram)	Berat ekstrak (gram)	Rendemen (%)
500	51,5108	10,302

Tabel 4. Hasil pemeriksaan organoleptis ekstrak etanol tanaman keladi tikus

Organoleptis	Hasil
Bentuk	Ekstrak kental
Warna	Hijau pekat, kecoklatan
Bau	Khas keladi tikus

Dari data tersebut menunjukkan bahwa nilai rendemen ekstrak etanol keladi tikus sebesar 10,302% sesuai dengan syarat yang tertera pada literatur, dimana rendemen ekstrak keladi tikus tidak boleh kurang dari 7%. Pengamatan organoleptis menunjukkan hasil ekstrak keladi tikus yang sesuai dengan literatur, sehingga dapat diartikan bahwa ekstrak etanol tersebut telah sesuai dan memenuhi syarat.

7. Pembuatan fraksi *n*-heksan, fraksi etil asetat, dan fraksi air tanaman keladi tikus

Pembuatan fraksi *n*-heksan dan fraksi etil asetat tanaman keladi tikus dilakukan menggunakan ekstraksi cair-cair dengan menggunakan corong pisah. Prinsip kerja dari metode ekstraksi cair-cair yaitu adanya kesetimbangan senyawa di antara dua pelarut yang saling tidak bercampur. *n*-heksan merupakan pelarut nonpolar yang diharapkan dapat melarutkan senyawa-senyawa nonpolar seperti terpenoid dan steroid secara maksimal. Sedangkan etil asetat merupakan pelarut polar yang mampu menarik senyawa-senyawa bersifat polar seperti fenolik dan flavonoid dalam ekstrak. Hasil perhitungan rendemen dapat dilihat pada Tabel 6.

Tabel 5. Hasil rendemen fraksi *n*-heksan dan fraksi etil asetat tanaman keladi tikus

Fraksi	Berat ekstrak (gram)	Berat fraksi (gram)	Rendemen (%)
<i>n</i> -heksan	10,147	1,045	10,3
Etil asetat	10,108	1,3221	13,08
Air	10,122	0,986	9,74

Perhitungan rendemen ketiga fraksi menunjukkan hasil yang berbeda-beda. Fraksi etil asetat menunjukkan rendemen yang paling besar dibandingkan dengan fraksi etil asetat dan fraksi air. Hal ini dapat diartikan bahwa senyawa yang tertarik dari ekstrak etanol dalam pelarut etil asetat lebih banyak dibanding pelarut *n*-heksan dan air. Nilai rendemen terkecil dimiliki oleh pelarut air karena sedikitnya senyawa polar yang tertarik dalam pelarut air. Perhitungan fraksi *n*-

heksan, fraksi etil asetat, dan fraksi air yang didapat dari proses ekstraksi dapat dilihat pada lampiran 4.

8. Identifikasi kandungan senyawa pada ekstrak dan fraksi tanaman keladi tikus.

Identifikasi kandungan senyawa dalam ekstrak dan fraksi tanaman keladi tikus dilakukan dengan metode uji tabung. Uji tabung dipilih karena lebih mudah dilakukan serta alat yang sederhana dan biaya operasional lebih murah. Uji tabung dilakukan dengan melihat adanya perubahan warna yang terjadi pada sampel dengan penambahan reagen pereaksi tertentu, seperti terjadinya perubahan warna atau endapan terbentuk yang bertujuan untuk mengetahui golongan senyawa yang terkandung di dalam ekstrak maupun fraksi. Identifikasi dilakukan dengan menambahkan ekstrak dan fraksi dengan reagen pereaksi tertentu yang sesuai dan diamati perubahannya. Hasil identifikasi ekstrak dan fraksi keladi tikus dapat dilihat pada Tabel 6.

Tabel 6. Hasil identifikasi senyawa pada ekstrak dan fraksi tanaman keladi tikus

Kandungan Kimia	Pustaka	Hasil			
		Ekstrak	Fraksi <i>n</i> -heksan	Fraksi etil asetat	Fraksi air
Fenolik	Terbentuk warna hijau, biru atau ungu (Agustina <i>et al.</i> 2017).	Warna biru (+)	Warna coklat kehitaman (-)	Warna biru (+)	Warna ungu (+)
Flavonoid	Terbentuk warna merah tua jingga pada lapisan amil alkohol (Agustina <i>et al.</i> 2017).	Warna merah tua jingga pada lapisan amil alkohol (+)	Warna hitam (-)	Warna merah tua jingga pada lapisan amil alkohol (+)	Warna merah tua jingga pada lapisan amil alkohol (+)
Tanin	Terbentuk warna hijau kehitaman (Depkes 1995)	Warna hijau kehitaman (+)	Warna kuning transparan (-)	Warna hijau kehitaman (+)	Warna hijau kehitaman (+)
Terpenoid	Terbentuk larutan dengan warna merah, jingga, atau ungu (Agustina <i>et al.</i> 2017).	Warna ungu (+)	Warna ungu kehitaman (+)	Warna putih kekuningan (-)	Warna putih kekuningan (-)

	Terbentuk endapan putih (Agustina <i>et al.</i> 2017).	Terbentuk endapan putih atau kuning (ekstrak+reagen mayer 2 tetes) (+)	Tidak terbentuk endapan putih (-)	Terbentuk endapan putih (+)	Tidak terbentuk endapan putih (-)
Alkaloid	Endapan berwarna coklat sampai hitam (Agustina <i>et al.</i> 2017).	Terbentuk warna coklat sampai hitam (Ekstrak + Reagen Dragendroff 2 tetes) (+)	Tidak terbentuk warna coklat sampai hitam (-)	Terbentuk warna coklat sampai hitam (+)	Tidak terbentuk warna coklat sampai hitam (-)

Senyawa yang terkandung akan tertarik ke dalam pelarut sesuai dengan tingkat kepolarannya. Pelarut polar akan melarutkan senyawa yang bersifat polar dan pelarut non polar akan melarutkan senyawa non polar, sedangkan pelarut semi polar akan melarutkan keduanya. Ekstrak etanol 96% bersifat polar, berdasarkan uji tabung positif mengandung senyawa flavonoid, fenolik, tanin, alkaloid dan terpenoid. Fraksi etil asetat yang bersifat semi polar menunjukkan bahwa fraksi tersebut mengandung senyawa flavonoid, fenolik, tannin, alkaloid dan terpenoid. Fraksi n-heksan yang bersifat non polar mengandung senyawa terpenoid. Fraksi air yang bersifat polar mengandung senyawa tanin, flavonoid, dan fenolik.

9. Uji sitotoksik

Pengujian sitotoksik terhadap sel kanker payudara T47D dilakukan di Laboratorium Parasitologi Fakultas Kedokteran Universitas Gadjah Mada pada Mei 2019. Sel kanker payudara yang digunakan berupa kultur sel kanker payudara T47D. Kultur sel merupakan salah satu teknik untuk mengembangkan sel kanker diluar tubuh (*in vitro*). Penggunaan kultur sel mempunyai keuntungan yaitu lingkungan tempat hidup sel dapat dikontrol dan diatur sehingga kondisi fisiologis dari kultur relatif konstan. Kelemahan dari teknik ini adalah sel yang dikultur mengalami perubahan sifat karena perkembangbiakan sel di dalam tubuh (*in vitro*) (Zairisman 2006).

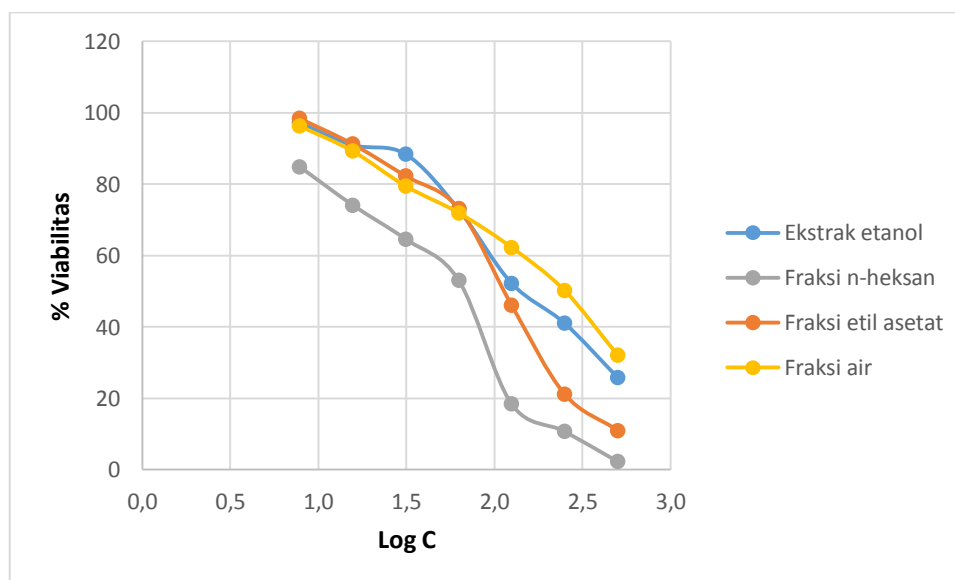
Uji sitotoksik secara garis besar dibagi menjadi empat tahapan. Tahap pertama yaitu melakukan kultur sel dengan cara menumbuhkan sel kanker

payudara T47D dalam media kultur RPMI. Pencucian menggunakan PBS yang bertujuan untuk menghilangkan sel-sel yang tidak sehat serta menghilangkan kandungan zat dalam media RPMI yang tertinggal, karena serum ini dapat menghambat kerja tripsin (Maulana 2010). Proses penambahan tripsin dan inkubasi selama 5 menit bertujuan untuk membiarkan sel berpenetrasi dengan tripsin yang berfungsi sebagai enzim protease yang melepaskan interaksi antara molekul glikoprotein dan peroteoglikan dengan permukaan *flask*. Akibatnya sel akan kehilangan kemampuan untuk melekat pada permukaan *flask* dan terlihat megapung (Doyle *et al.* 2000).

Pada penelitian ini jumlah sel kanker hidup dalam suspensi yang digunakan dalam kultur adalah $101,75 \times 10^4$ sel. Pengenceran suspensi untuk mendapatkan konsentrasi sel kanker payudara T47D untuk 96 sumuran dimana tiap sumuran sebanyak 100 μL /sumuran. Tahap kedua dilakukan perlakuan sampel menggunakan sampel uji ekstrak, fraksi etil asetat, fraksi *n*-heksan, dan fraksi air dari tanaman keladi tikus serta kontrol positif doxorubicin. DMSO digunakan sebagai pelarut agar ekstrak dan fraksi larut dengan baik. Pelarut DMSO (dimetil sulfoksida) digunakan secara luas untuk melarutkan senyawa polar maupun non polar dan tidak bersifat toksik. Seri konsentrasi untuk ekstrak dan fraksi yang digunakan dalam penelitian ini yaitu 500 $\mu\text{g/mL}$; 250 $\mu\text{g/mL}$; 125 $\mu\text{g/mL}$; 62,5 $\mu\text{g/mL}$, 31,2 $\mu\text{g/mL}$; 15,6 $\mu\text{g/mL}$; 7,81 $\mu\text{g/mL}$. Sedangkan seri konsentrasi untuk doxorubicin yang digunakan adalah 1 $\mu\text{g/mL}$; 0,5 $\mu\text{g/mL}$; 0,125 $\mu\text{g/mL}$; 0,0625 $\mu\text{g/mL}$; 0,0312 $\mu\text{g/mL}$; 0,0156 $\mu\text{g/mL}$.

Pengujian sitotoksik pada tahap ketiga yaitu pengujian dengan *MTT Assay*. Sel-sel yang masih hidup akan menghasilkan enzim mitokondria reduktase yang selanjutnya akan bereaksi dengan cara mereduksi MTT sehingga membentuk kristal formazan yang berwarna ungu. Kristal formazan bersifat impermeable pada membran sel dan tidak larut dalam air sehingga ditambahkan dengan pelarut SDS untuk melarutkan kristal formazan ungu tersebut. Tahap keempat yaitu pembacaan absorbansi perlakuan dengan menggunakan *ELISA reader*. Data absorbansi selanjutnya dilakukan penyajian hubungan antara % viabilitas sel

terhadap konsentrasi ekstrak etanol, fraksi *n*-heksan dan fraksi etil asetat tanaman keladi tikus.



Gambar 4. Grafik hubungan %viabilitas sel vs Log C ekstrak etanol, fraksi *n*-heksan, fraksi etil asetat dan fraksi air tanaman keladi tikus terhadap sel kanker payudara T47D.

Persentasi viabilitas sel menunjukkan persentasi kehidupan sel setelah dilakukan perlakuan. Grafik hubungan pada kelompok perlakuan ekstrak etanol, fraksi *n*-heksan, fraksi etil asetat, dan fraksi air menunjukkan penurunan persentasi kehidupan sel pada konsentrasi tinggi. Hal ini menunjukkan adanya kemampuan dari senyawa terkandung dalam ekstrak dan fraksi yang berperan dalam penghambatan pertumbuhan sel kanker. Penurunan persentasi kehidupan sel kanker pada fraksi lebih signifikan dibanding penurunan persentasi kehidupan pada ekstrak. Hal tersebut menunjukkan bahwa perlakuan menggunakan fraksi etil asetat dan fraksi *n*-heksan lebih efektif dibanding perlakuan menggunakan ekstrak etanol dan fraksi air. Hal ini diidentifikasi lebih lanjut menggunakan perhitungan lebih lanjut pada nilai IC_{50} yang dapat dilihat pada Lampiran 12.

Penentuan sitotoksik senyawa dapat dilakukan dengan melihat nilai IC_{50} . Pada penentuan IC_{50} dilakukan dengan regresi linear pada konsentrasi sampel. Kelompok perlakuan dengan ekstrak etanol didapatkan persamaan regresi linear $Y = -41,505x + 141,55$ dengan nilai $r = 0,9585$. Nilai r merupakan koefisien korelasi

yang menunjukkan linearitas dan menunjukkan seberapa besar kemampuan semua variabel bebas dalam menjelaskan varian dari variabel terikatnya. Harga nilai $r = 0,61-0,80$ tergolong interpretasi cukup (Scheffler 1987). Pada persamaan linear tersebut didapatkan nilai IC_{50} sebesar $160,605 \mu\text{g/mL}$. Menurut Freshney (2000) rentan nilai IC_{50} bila $<30 \mu\text{g/mL}$ sangat aktif, $30-100 \mu\text{g/mL}$ aktif dan $>100 \mu\text{g/mL}$ dinyatakan kurang aktif, tetapi berpotensi terhadap sel kanker. Berdasarkan kriteria tersebut kelompok perlakuan ekstrak etanol menunjukkan aktivitas sitotoksik yang kurang aktif tetapi masih memiliki efek sitotoksik terhadap terhadap sel kanker payudara T47D. Kelompok perlakuan ekstrak etanol memiliki nilai IC_{50} yang tinggi sehingga efek sitotoksiknya rendah kemungkinan disebabkan karena dalam ekstrak tersebut terdapat beragam senyawa baik yang bersifat polar, semi polar maupun non polar sehingga efek sitotoksiknya saling mempengaruhi (Ismiyati 2015).

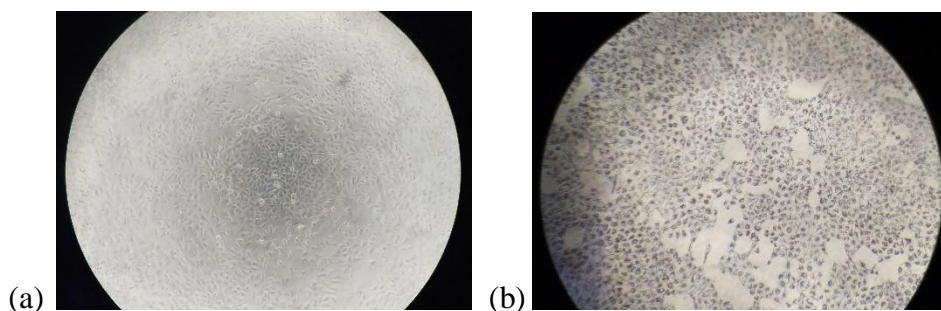
Kelompok perlakuan dengan fraksi etil asetat didapatkan persamaan regresi linear $Y = -51,978x + 153,91$ dengan nilai $r = 0,951$. Pada persamaan linear tersebut didapatkan nilai IC_{50} sebesar $99,796 \mu\text{g/mL}$. Rentan nilai $IC_{50} <10 \mu\text{g/mL}$ sangat aktif, $10-20 \mu\text{g/mL}$ aktif dan $>20 \mu\text{g/mL}$ dinyatakan kurang aktif, namun nilai $IC_{50} <50-100 \mu\text{g/mL}$ dinyatakan kurang aktif, tetapi berpotensi terhadap sel kanker. Kriteria rentan nilai IC_{50} yang disebutkan bahwa kelompok perlakuan fraksi etil asetat menunjukkan aktivitas sitotoksik yang aktif terhadap sel kanker payudara T47D.

Kelompok perlakuan fraksi *n*-heksan didapatkan persamaan regresi linier $Y = -49,926x + 133,76$ dengan nilai $r = 0,9599$. Pada persamaan linier tersebut didapatkan nilai IC_{50} sebesar $47,476 \mu\text{g/mL}$. Menurut kriteria rentan nilai IC_{50} diatas kelompok perlakuan fraksi *n*-heksan menunjukkan aktivitas sitotoksik yang aktif terhadap terhadap sel kanker payudara T47D.

Kelompok perlakuan fraksi air didapatkan persamaan regresi linier $Y = -49,926x + 133,76$ dengan nilai $r = 0,9599$. Pada persamaan linier tersebut didapatkan nilai IC_{50} sebesar $47,476 \mu\text{g/mL}$. Menurut kriteria rentan nilai IC_{50} diatas kelompok perlakuan fraksi *n*-heksan menunjukkan aktivitas sitotoksik yang kurang aktif terhadap sel kanker payudara T47D. Fraksi air didapatkan persamaan

regresi linear $Y = -34,123x + 130,14$ dengan nilai $r = 0,9757$. Pada persamaan linier tersebut didapatkan nilai IC_{50} sebesar $223,132 \mu\text{g/mL}$. Menurut kriteria rentan nilai IC_{50} diatas kelompok perlakuan fraksi *air* menunjukkan aktivitas sitotoksik yang kurang poten terhadap sel kanker payudara T47D.

Dari hasil uji sitotoksik yang telah dilakukan terhadap ketiga kelompok uji tersebut menunjukkan bahwa ekstrak etanol, fraksi etil asetat, dan fraksi *n*-heksan menunjukkan aktivitas sitotoksik yang aktif terhadap sel kanker payudara T47D, sedangkan fraksi air kurang aktif terhadap kanker. Kelompok perlakuan yang menunjukkan aktivitas paling aktif terhadap sel kanker payudara T47D adalah kelompok perlakuan menggunakan fraksi *n*-heksan dengan nilai IC_{50} sebesar $47,476 \mu\text{g/mL}$, diikuti dengan kelompok perlakuan menggunakan fraksi etil asetat dengan nilai IC_{50} sebesar $99,796 \mu\text{g/mL}$, kelompok perlakuan menggunakan ekstrak etanol dengan nilai IC_{50} sebesar $160,605 \mu\text{g/mL}$, dan terakhir adalah kelompok fraksi air dengan nilai IC_{50} sebesar $223,132 \mu\text{g/mL}$. Nilai IC_{50} yang diperoleh dari masing-masing kelompok uji dipengaruhi oleh senyawa yang terkandung dalam ekstrak dan fraksi yang berpotensi membunuh sel kanker seperti flavonoid, fenolik dan terpenoid. Selain itu, kemampuan senyawa menembus membran sel kanker juga mempengaruhi sitotoksitas suatu senyawa.

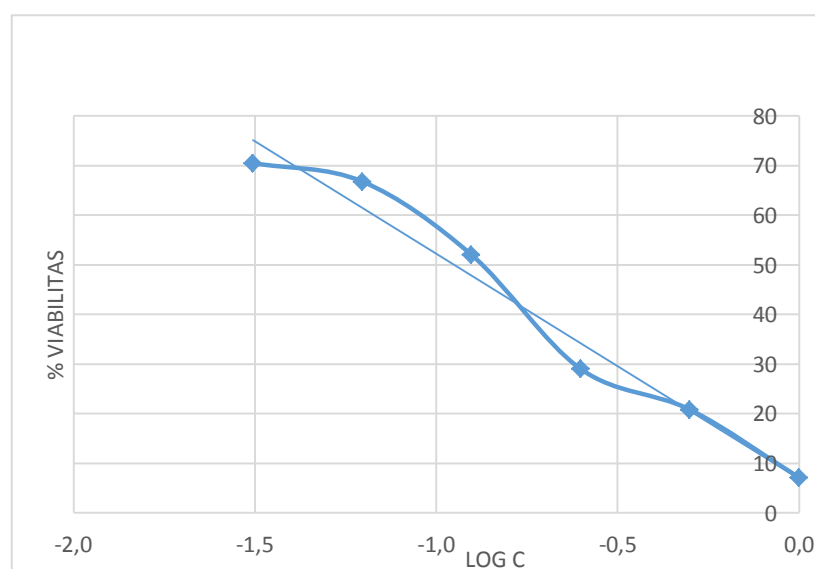


Gambar 5. Morfologi sel kanker payudara T47D (a) setelah pemberian MTT dan (b) setelah pemberian MTT dan SDS.

Prinsip MTT berdasarkan kemampuan sel yang menyerap garam tetrazolium menjadi kristal formazon dengan bantuan enzim suksinat dehidrogenase reduktase di dalam mitokondria. Apabila warna ungu semakin pekat maka masih terdapat sel yang masih hidup sebaliknya apabila warna

semakin pudar (kuning) maka sel tersebut telah mati (Siregar dan Hadijono 2000).

Kristal foramazon ungu yang larut dalam SDS kemudian diukur absorbansinya dengan menggunakan *Elisa Reader*. Serapan yang dihasilkan sebanding dengan jumlah sel hidup. Analisa hasil dibuat dalam bentuk grafik % viabilitas sel dengan konsentrasi ekstrak jahe merah, fraksi etil asetat, fraksi *n*-heksan dan fraksi air. Perhitungan terhadap kematian sel dilakukan untuk menentukan nilai IC_{50} dari masing-masing perlakuan.



Gambar 6. Grafik hubungan %viabilitas vs konsentrasi kontrol positif doxorubicin terhadap sel kanker payudara T47D.

Doxorubicin sebagai kontrol positif mempunyai IC_{50} lebih rendah dari ekstrak dan fraksi yaitu sebesar $1,532 \mu\text{g/mL}$. Perhitungan nilai IC_{50} pada doxorubicin dilakukan dengan menggunakan 7 seri konsentrasi yaitu $1 \mu\text{g/mL}$; $0,5 \mu\text{g/mL}$; $0,125 \mu\text{g/mL}$; $0,0625 \mu\text{g/mL}$; $0,0312 \mu\text{g/mL}$; $0,0156 \mu\text{g/mL}$. Sehingga didapat persamaan regresi linier, nilai $Y = -45,36x + 6,9719$ dengan nilai $r = 0,9719$. Data nilai r pada doxorubicin terinterpretasi cukup adanya hubungan variasi konsentrasi sampel uji dengan % viabilitas sel.

Ekstrak tanaman keladi tikus mengandung senyawa fenolik, terpenoid, flavonoid, stigmasterol, saponin, steroid atau triterpenoid dan kumarin. Senyawa aktif yang berperan sebagai anti kanker yaitu senyawa flavonoid, terpenoid dan senyawa fenolik, dimana senyawa terpenoid bersifat non polar sedangkan

senyawa flavonoid dan senyawa fenolik bersifat polar (Muhammad *et al.* 2007). Uji tabung yang dilakukan menunjukkan senyawa yang tertarik dalam ekstrak etanol antara lain senyawa flavonoid, fenolik, alkaloid, tanin, dan terpenoid. Uji tabung yang dilakukan pada fraksi etil asetat menunjukkan bahwa fraksi etil asetat mengandung senyawa flavonoid, fenolik, alkaloid, dan tanin. Fraksi *n*-heksan menunjukkan adanya kandungan terpenoid dan fraksi air menunjukkan adanya kandungan flavonoid, fenolik, dan tanin.

Senyawa flavonoid dan fenolik memiliki aktivitas sitotoksik pada sel kanker payudara T47D melalui penghambatan kinetika proliferasi dan induksi apoptosis melalui aktivasi Caspase-3 tanpa meningkatkan ekspresi protein Bax. Senyawa tanin bekerja dengan pengaktifan jalur apoptosis sel kanker yaitu dengan menghibisi aktifitas protein kinase sehingga menghambat jalur transduksi sinyal dari membran ke inti sel sehingga keganasan dari sel kanker menjadi terhambat. Senyawa alkaloid bekerja dengan mengikat tubulin dan menghambat pembentukan komponen mikrotubulin pada kumparan mitosis sehingga metafase dapat terhenti (Ismail 2012). Terpenoid bekerja dengan cara memblok siklus sel pada fase G_2 dengan menstabilkan benang-benang spindel pada fase mitosis sehingga menyebabkan proses mitosis tersebut terhambat, selain itu juga mampu menghambat enzim topoisomerase pada sel mamalia. Enzim topoisomerase pada sel tipe I dan tipe II bekerja dengan mengendorkan lilitan DNA dupleks (rantai ganda), adanya enzim helikase selanjutnya bekerja dengan memotong ikatan hidrogen antara asam basa penyusun DNA sehingga lilitan rantai ganda menjadi terbuka (Pratiwi 2008).

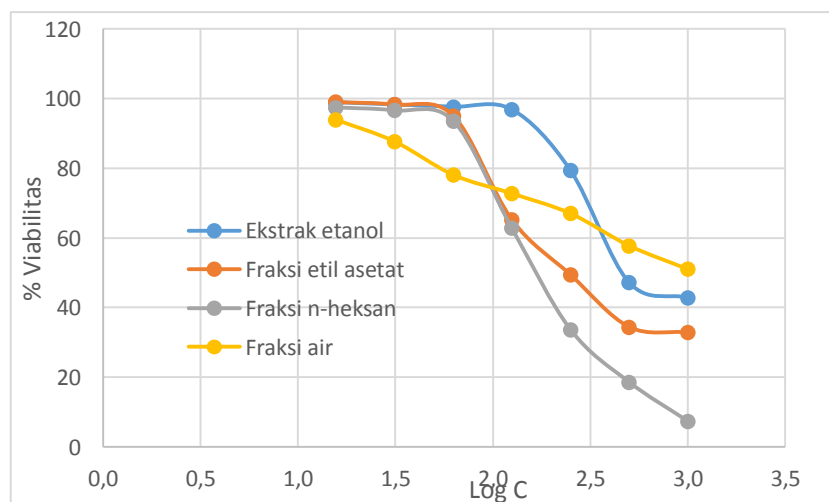
Sel kanker terdiri dari membran sel dengan penyusun berupa P-glikoprotein yang merupakan pelindung sel dan bersifat hidrofobik sehingga obat yang masuk biasanya mengalami *bypassing* atau adanya *efflux* pengeluaran obat. Senyawa yang non polar lebih mudah menembus dinding sel kanker sehingga sampel *n*-heksan yang mengandung senyawa non polar dapat memberikan efek sitotoksik yang besar terhadap sel kanker. Sampel yang mengandung senyawa polar seperti ekstrak, fraksi etil asetat, dan fraksi air tetap memberikan efek

sitotoksik walau kurang aktif karena sifat senyawa yang polar sedikit sukar menembus membran sel kanker yang bersifat non polar (Wei *et al.* 2015).

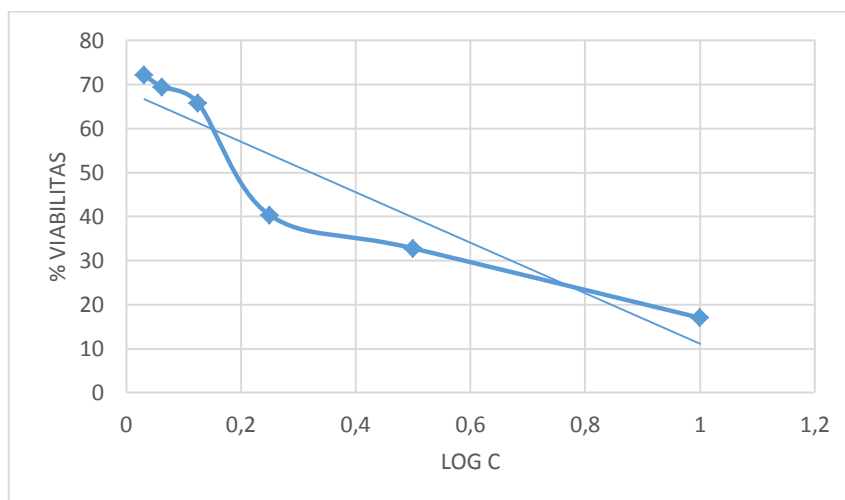
Fraksi air memiliki nilai IC_{50} yang cukup besar dan tidak menunjukkan adanya efek sitotoksik yang aktif pada sel kanker payudara T47D. Hal tersebut kemungkinan disebabkan karena senyawa yang aktif terhadap sel kanker telah tertarik oleh pelarut *n*-heksan dan etil asetat sehingga senyawa aktif yang tersisa pada fraksi air hanya sedikit.

10. Indeks selektivitas

Indeks selektivitas mengindikasikan selektivitas sitotoksik (keamanan) ekstrak dari kultur sel kanker payudara T47D terhadap sel normal (sel vero), yang dihitung dengan membandingkan IC_{50} ekstrak terhadap sel normal (sel vero) dan IC_{50} ekstrak dan fraksi terhadap kanker. Evaluasi keamanan sampel tanaman keladi tikus dilakukan dengan pengukuran indeks selektivitas yang dilakukan pada ekstrak etanol, fraksi *n*-heksan, fraksi etil asetat, fraksi air keladi tikus serta kontrol positif doxorubicin.



Gambar 7. Grafik hubungan %viabilitas vs Log C ekstrak etanol, fraksi *n*-heksan, fraksi etil asetat dan fraksi air tanaman keladi tikus terhadap sel vero.



Gambar 8. Grafik hubungan %viabilitas vs konsentrasi kontrol positif doxorubicin terhadap sel vero.

Hasil pengujian didapatkan nilai indeks selektivitas ekstrak etanol sebesar 4,788, fraksi etil asetat sebesar 3,169, fraksi *n*-heksan sebesar 4,011, fraksi air sebesar 5,052, dan kontrol positif doxorubicin sebesar 1,781. Menurut Prayong *et al.* (2008), dikatakan memiliki selektivitas yang tinggi apabila nilai indeks selektivitas >3 . Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak etanol, fraksi etil asetat dan fraksi *n*-heksan tanaman keladi tikus memiliki indeks selektivitas yang cukup tinggi atau selektif terhadap sel normal sehingga ekstrak dan fraksi dikatakan aman dan tidak membunuh sel normal. Kontrol positif yang menunjukkan nilai indeks selektivitas <3 diartikan bahwa doxorubicin kurang aman atau kurang selektif terhadap sel normal. Nilai indeks selektivitas dapat dilihat pada tabel 9.

Tabel 9. Indeks selektivitas ekstrak dan fraksi tanaman keladi tikus

Sampel	IC ₅₀ sel vero	IC ₅₀ sel T47D	Indeks selektivitas
Ekstrak etanol	960,368 µg/ml	160,605 µg/ml	5,919
Fraksi etil asetat	316,517 µg/mL	99,796 µg/ml	3,172
Fraksi <i>n</i> -heksan	86,124 µg/mL	47,476 µg/ml	3,715
Fraksi air	1127,212 µg/mL	223,132 µg/mL	5,052
Doxorubicin	8,643 µg/ml	1,532 µg/ml	1,781