

BAB IV

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

1. Determinasi tanaman keladi tikus

Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah tanaman keladi tikus, yang didapatkan dari B2P2TOOT Karanganyar, Jawa Tengah. Determinasi tanaman keladi tikus merupakan syarat mutlak yang harus dilakukan sebelum melakukan penelitian, hal ini bertujuan untuk mengetahui kebenaran tanaman yang digunakan sebagai sampel dalam penelitian. Determinasi tanaman 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.

2. Ethical clearance

Persyaratan sebelum melakukan penelitian terhadap kultur sel adalah ethical clearance atau kelaikan etik. Pembuatannya dilakukan di RS Dr Muwardi Surakarta dan dinyatakan layak dengan nomor surat : 553/IV/HERC/2019. Surat Keterangan kelayakan etik dapat dilihat pada lampiran 2.

3. Pengumpulan, pengeringan bahan, dan pembuatan serbuk

Tanaman keladi tikus yang digunakan sebagai penelitian merupakan bagian lengkap tanaman yang terdiri dari daun, batang, dan umbinya. Tanaman hasil panen disortasi basah untuk memisahkan kotoran-kotoran atau bahan-bahan asing lainnya dari simplisia. Tanaman keladi tikus hasil sortasi basah dicuci menggunakan air bersih mengalir, proses pencucian bertujuan untuk menghilangkan bahan pengotor seperti yang melekat pada tanaman dan ditiriskan. Kemudian dilakukan proses perajangan pada umbi tanaman yang bertujuan untuk memperkecil ukuran sampel sehingga mempermudah pada saat dilakukan pengeringan.

Berat sampel basah tanaman keladi tikus 15.000 gram, sedangkan sampel kering yang diperoleh melalui proses pengeringan yaitu sebanyak 1.610 gram. Data rendemen berat tanaman keladi tikus dapat dilihat pada tabel 1 dan

perhitungan lengkap dapat dilihat pada lampiran 3. Tujuan dilakukan pengeringan yaitu untuk mengurangi kandungan air pada tanaman, kadar air yang terlalu tinggi dapat menjadi media pertumbuhan mikroorganisme, serta menghentikan reaksi enzimatik yang dapat merusak kandungan senyawa aktif pada simplisia (Depkes, 2000).

Pembuatan serbuk bertujuan untuk memperkecil ukuran partikel sehingga dapat memperbesar luas permukaan bahan dan memperbesar kontak antara pelarut dan senyawa aktif sehingga dapat tersari secara sempurna dan dapat diperoleh hasil yang maksimal (Gunawan dan Mulyani, 2004). Serbuk kering tanaman keladi tikus yang diperoleh sebanyak 1.610 g yang selanjutnya dihaluskan menggunakan blender dan diayak, dengan ayakan no 40.

Tabel 1. Hasil perhitungan rendemen tanaman keladi tikus

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

Dari data dapat dilihat rendemen simplisia tanaman keladi tikus dengan berat basah sebanyak 15 kg, diperoleh berat kering 1.610g sehingga didapatkan rendemen hasil 7,73 %. Untuk perhitungan lengkap dapat dilihat pada lampiran 3.

4. Hasil Karakterisasi Tanaman Keladi Tikus

4.1 Hasil pemeriksaan organoleptis serbuk. Tujuan pemeriksaan organoleptis serbuk tanaman keladi tikus adalah untuk mengetahui sifat fisik dan karakterisasi dari serbuk baik dalam bentuk warna, bau, dan rasa. Hasil pemeriksaan organoleptis serbuk tanaman keladi tikus dapat dilihat pada tabel 2.

Tabel 2. Hasil pemeriksaan organoleptis serbuk tanaman keladi tikus.

Organoleptis	Hasil
Bentuk	Serbuk
Warna	Hijau
Bau	Tidak berbau
Rasa	Pahit

4.2 Hasil penetapan kadar air serbuk tanaman keladi tikus. Alat yang digunakan dalam penetapan kadar air adalah *Sterling-Bidwell* dengan pelarut *toluen*. Hasil penetapan kadar air serbuk tanaman keladi tikus dapat dilihat pada tabel 3.

Tabel 3. Hasil penetapan kadar air serbuk tanaman keladi tikus

No	Penimbangan (g)	Volume pada skala (ml)	Kadar air %
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

Penetapan kadar air serbuk tanaman keladi tikus yang dilakukan dengan 3 kali replikasi, berdasarkan data pada tabel 3 diperoleh data persentase kadar air sebesar 8,48 %. Berdasarkan FHI edisi I tahun 2008, kadar air secara umum yang memenuhi standard persyaratan adalah tidak boleh lebih dari 10%, dikarenakan kadar air yang tinggi dapat menurunkan kualitas simplisia dan dapat merubah komposisi zat kimia. Oleh karena itu berdasarkan data dari tabel 3 dapat disimpulkan bahwa tanaman keladi tikus memenuhi persyaratan karena persentase kadar serbuk tanaman keladi tikus tidak lebih dari 10%. Perhitungan penetapan kadar terdapat di lampiran 4.

4.3 Hasil penetapan susut pengeringan pada serbuk tanaman keladi tikus.

Penetapan susut pengeringan dilakukan di Laboratorium Teknologi Farmasi Universitas Setia Budi Surakarta, penetapan susut pengeringan ini bertujuan untuk memberikan batasan maksimal mengenai jumlah air dan senyawa yang hilang pada saat proses pengeringan (Depkes RI 2000). Alat yang digunakan adalah *moisture balance* pada suhu pemansan 105°C. Hasil dari penetapan susut pengeringan selalu lebih besar daripada hasil penetapan kadar air serbuk, hal itu dikarenakan pada penentapan kadar air serbuk parameter yang dihitung adalah hanya kandungan air nya saja, sedangkan pada susut pengeringan parameter yang dihitung adalah air dan senyawa lain yang ada dalam tanaman yang mudah menguap dalam suhu tinggi misalnya minyak atsiri, hasil penetapan susut pengeringan dapat dilihat pada tabel 4.

Tabel 4. Hasil penetapan susut pengeringan pada serbuk tanaman keladi tikus

No	Penimbangan (g)	Suhu	Waktu	Susut pengeringan (%)
1.	2	105°C	05.39	9,5
2.	2	105°C	06.31	9,9
3.	2	105°C	07.26	8,9
Rata- rata		28,3/3 = 9,4 %		

Dari data pada tabel 4, rata-rata nilai susut pengeringan serbuk tanaman keladi tikus sebesar 9,4 %. Tanaman Keladi Tikus belum terdaftar di FHI, parameter susut pengeringan dilihat secara umum yaitu kurang dari 10 % .

5. Pembuatan ekstrak etanol tanaman keladi tikus.

Pembuatan ekstrak etanol tanaman keladi tikus menggunakan metode maserasi. Pemilihan metode maserasi ini karena metodenya sederhana, pelarut yang digunakan relatif sedikit dan tidak menggunakan pemanasan. Pelarut dalam proses maserasi yaitu etanol 96%. Pemilihan etanol 96% sebagai pelarut karena Etanol 96% merupakan pelarut yang universal dan dapat menyari senyawa yang bersifat polar, semi polar hingga non polar (Seidel, 2006), selain itu etanol juga tidak mempengaruhi zat berkhasiat dalam tanaman.

Serbuk tanaman yang digunakan sebanyak 500 g, dan didapatkan rendemen ekstrak sebesar 10,302 %. Data Hasil perhitungan rendemen ekstrak dapat dilihat pada tabel 5 dan lampiran 5.

Tabel 5. Hasil perhitungan rendemen ekstrak etanol tanaman keladi tikus.

Simplisia (g)	Ekstrak (g)	Rendemen %
500	51,5108	10,302

Ekstrak etanol tanaman keladi tikus yang diperoleh dari hasil ekstraksi dengan metode maserasi diperoleh rendemen ekstrak yang didapat 10,302 %.

Ekstrak etanolik tanaman keladi tikus kemudian disimpan dalam wadah tertutup rapat kedap udara yang terlindung dari cahaya untuk mencegah terkontaminasinya ekstrak oleh mikroorganisme yang terdapat di udara dan mencegah reaksi degradasi senyawa aktif yang dikatalisis oleh cahaya matahari yang dapat merusak komponen zat aktif (Voight, 1994).

5.1. Hasil Pemeriksaan Organoleptis Ekstrak Etanol Tanaman Keladi Tikus. Selain serbuk pemeriksaan organoleptis pada ekstrak pun perlu dilakukan, hal ini bertujuan agar mengetahui sifat fisik dari ekstrak tersebut, meliputi pemeriksaan bentuk, warna, rasa dan bau. Hasil pemeriksaan dapat dilihat pada tabel 6.

Tabel 6. Hasil pemeriksaan organoleptis ekstrak etanol tanaman keladi tikus.

Organoleptis	Hasil
Bentuk	Kental
Warna	Hijau kehitaman
Bau	Tidak berbau
Rasa	Pahit

6. Hasil identifikasi kandungan kimia.

Identifikasi kandungan pada tanaman keladi tikus dilakukan secara kualitatif, identifikasi dapat dilihat dengan adanya perubahan warna ataupun terjadinya endapan. Senyawa yang diduga memiliki aktivitas antikanker antara lain, adalah flavonoid, alkaloid, tanin, dan terpenoid. Hasil identifikasi dapat dilihat pada tabel 7.

Tabel 7. Hasil analisis kandungan senyawa kimia ekstrak etanol tanaman keladi tikus secara kualitatif

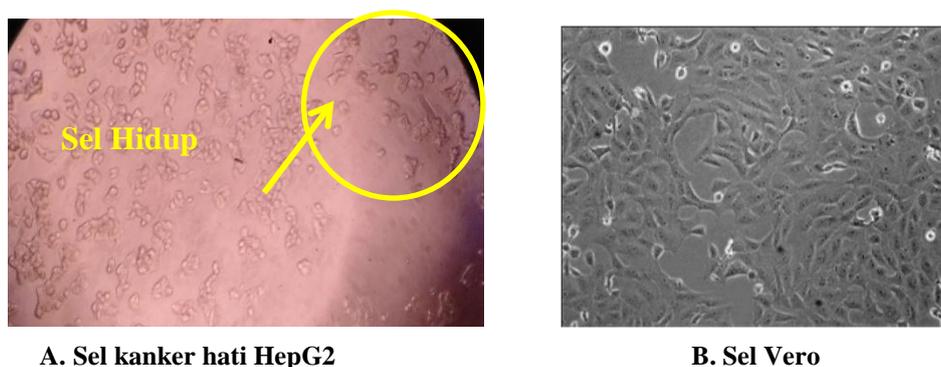
Senyawa	Hasil	Keterangan	Pustaka
flavanoid	Ekstrak : berwarna kuning dan terdapat cincin Serbuk : lapisan berwarna jingga	Ekstrak : + Serbuk : +	Terbentuknya warna merah, kuning sampai jingga pada lapisan amil alkohol (Harbone, 1998)
tanin	Ekstrak : coklat kehitaman Serbuk : Biru kehitaman	Ekstrak : + Serbuk : +	Adanya senyawa tanin ditunjukkan dengan terbentuknya warna biru tua atau hijau kehitaman.
Triterpenoid dan steroid	Ekstrak : ungu Serbuk : ungu	Ekstrak : + Serbuk : +	Terbentuknya warna biru tua atau hijau, kehitaman, merah, ungu .
Alkaloid	Ekstrak : dengan pereaksi bouchardat terdapat endapan coklat, dengan pereaksi mayer → terjadi endapan coklat. Serbuk : dengan Bouchardat → terjadi endapan hitam dengan pereaksi mayer → terjadi endapan coklat.	Ekstrak : + Serbuk : +	Adanya senyawa steroid ditunjukkan dengan terbentuknya warna biru tua atau hijau kehitaman.

Berdasarkan data dari tabel 7 tentang hasil analisis ekstrak tanaman keladi tikus yang dicocokkan dengan pustaka, maka tanaman keladi tikus positif mengandung senyawa flavanoid, tanin, triterpenoid, steroid, dan alkaloid.

7. Uji sitotoksik

Pengujian sitotoksik terhadap sel HepG2 dan sel Vero dilakukan di Laboratorium Parasitologi Fakultas Kedokteran Universitas Gajah Mada, Uji

sitotoksik tunggal dilakukan untuk mengetahui aktivitas sitotoksik ekstrak etanol tanaman keladi tikus dan aktivitas doxorubicin dalam menghambat sel kanker hati HepG2 dan selektivitasnya pada sel vero. Uji sitotoksik merupakan uji skrining tahap awal untuk menentukan apakah ekstrak tanaman sampel mempunyai efek sitotoksik terhadap sel kanker sehingga dapat dijadikan alternatif pilihan pengobatan kanker atau sebagai agen kemoterapi. Parameter yang digunakan untuk menunjukkan potensi sitotoksik adalah nilai IC_{50} , nilai tersebut menunjukkan kadar konsentrasi yang mampu menghambat proliferasi sel sebesar 50%. Senyawa yang diketahui memiliki nilai IC_{50} yang kecil lebih memiliki potensi untuk dikembangkan sebagai agen anti kanker. Morfolgi sel HepG2 dan sel vero dapat dilihat pada gambar 8.



Gambar 9. Morfologi sel HepG2 dan sel Vero dilihat dengan mikroskop inverted perbesaran 40. Gambar A(morfologi sel kanker hati HepG2 yang masih hidup), gambar B (morfologi sel vero).

Berdasarkan gambar sel kanker hati HepG2 yang dilihat dengan *mikroskop inverted* berbentuk lonjong, bergerombol, tetapi cenderung tidak beraturan, sedangkan sel vero ramping dan berbentuk lonjong. Proses pengambilan sel yang dinyatakan sudah konfluen disebut panen sel, media kultur dibuang dan ditambahkan *Trypsin* yang berfungsi sebagai enzim protease.

Penghitungan sel yang sudah dipanen menggunakan alat Haemocytometer, kepadatan sel yang digunakan dalam tiap-tiap sumuran adalah 1×10^4 sel/100 μ l. Sel yang telah sesuai akan ditambahkan media DMEM dan diinkubasi. Variasi konsentrasi sampel 1000, 500, 250, 125, 62.5, 31,25, 15,625 μ g/ml dan konsentrasi dari Doxorubicin 2, 1, 0.5, 0.25, 0,1250, 0.625, 0.3125 μ g/ml.

Uji sitotoksik dimulai dengan menumbuhkan kultur sel HepG2 dan sel Vero dalam media, yaitu FBS, ditambahkan juga antibiotik dan antijamur, misalnya penicillin dan streptomycin (penstrep) untuk mencegah adanya kontaminasi bakteri dan jamur, dengan PH optimal berkisar 7-7,4. DMEM digunakan sebagai media tumbuh sel HepG2 dan sel Vero, kemudian sel yang sudah konfluen akan terlihat menempel pada dasar flask.

Uji sitotoksik dilakukan dengan metode pengujian berdasarkan pengukuran intensitas warna (kolometri) dan menggunakan MTT sebagai reagen. . Absorbansi dibaca dengan colorimetri pada alat *ELISA*, dengan panjang gelombang 595 nM. Absorbansi yang diperoleh dikonversikan dalam persentase sel hidup (% viabilitas sel). Data % viabilitas sel kanker hati HepG2 ini digunakan untuk menghitung nilai IC_{50} yang merupakan potensi ketoksikan ekstrak tanaman keladi tikus dan doxorubicin.

Perlakuan uji sitotoksik tidak hanya ekstrak terhadap sel kanker saja, akan tetapi perlu juga untuk dilakukan uji terhadap sel vero, hal ini bertujuan untuk melihat sejauh mana tingkat selektivitas dari sampel ekstrak terhadap sel kanker HepG2.

8. Uji selektivitas ekstrak etanol tanaman keladi tikus dan doxorubicin dengan sel vero.

Uji selektivitas penting dilakukan untuk mengukur kadar keamanan ekstrak ataupun obat sintetik terhadap sel yang normal, dengan melihat nilai indeks selektivitas yang dihitung dengan membandingkan IC_{50} ekstrak etanol tanaman keladi tikus dan IC_{50} doxorubicin terhadap sel kanker hati HepG2 dengan IC_{50} sel vero. Indeks selektivitas ini dapat menggambarkan ekstrak suatu tanaman semakin selektif apabila menunjukkan nilai ≥ 3 . Pada penelitian ini ekstrak tanaman keladi tikus menunjukkan indeks selektivitas sebesar 6,71 sehingga dapat dinyatakan ekstrak etanol tanaman keladi tikus memberikan toksisitas yang selektif terhadap sel normal, hal inipun berbanding lurus dengan penggunaan doxorubicin, nilai selektivitas doxorubicin terhadap sel kanker hati HepG2 adalah

16,26 \geq 3, sehingga dapat dikatakan bahwa doxorubicin juga selektif terhadap sel normal. Penggunaan Doxorubicin tetap menjadi pilihan utama dalam terapi pengobatan kanker, dikarenakan hanya dengan dosis yang relatif kecil dibandingkan dosis ekstrak Doxorubicin memiliki kemampuan membunuh dan menghambat proliferasi sel kanker. Tabel indeks selektivitas dapat dilihat pada tabel 8 dan 9, perhitungan lengkap ada pada lampiran 10.

Tabel 8. Selektivitas ekstrak terhadap sel vero

C($\mu\text{g/ml}$)	Log C	Rata-rata Abs	Km	Ks	% Viabilitas	IC ₅₀ $\mu\text{g/ml}$	Indeks selektivitas
1000	3,000	0,340			42,850	950,368 $\mu\text{g/ml}$	6,71
500	2,699	0,367			47,209		
250	2,398	0,569			79,426		
125	2,097	0,679	0,071	0,698	96,917		
62,5	1,796	0,684			97,714		
31,25	1,495	0,688			98,352		
15,625	1,194	0,692			98,990		

Keterangan: EETKD : Ekstrak Etanolik Tanaman Keladi Tikus

KM : Kontrol Media

KS : Kontrol Sel

Tabel 9. Selektivitas doxorubicin terhadap sel vero

C ($\mu\text{g/ml}$)	Rata-rata abs	Km	Ks	% viabilitas	IC ₅₀ $\mu\text{g/ml}$	Indeks selektivitas
2	0,113			8,061	4,88 $\mu\text{g/ml}$	16,26
1	0,224			29,431		
0,5	0,308			45,425		
0,25	0,362	0,071	0,592	55,854		
0,125	0,456			73,896		
0,0625	0,498			82,022		
0,03125	0,529			87,844		

Keterangan: EETKD : Ekstrak Etanolik Tanaman Keladi Tikus

KM : Kontrol Media

KS : Kontrol Sel

9. Uji Sitotoksik Ekstrak Etanolik Tanaman Keladi Tikus.

Uji sitotoksik ekstrak etanolik tanaman keladi tikus dengan seri konsentrasi 1000 ; 500 ; 250; 125 ; 62,5 ; 31,25 ; 15,625 $\mu\text{g/ml}$. Hasil uji sitotoksik ekstrak tanaman keladi tikus terhadap sel HepG2 dengan berbagai seri konsentrasi terlihat pada tabel 10

Tabel 10. Hasil Uji sitotoksik Tunggal Ekstrak Etanolik Tanaman Keladi Tikus terhadap sel kanker HepG2.

EETKD C ($\mu\text{g/ml}$)	log C	Rata-rata absorbansi	KM	KS	%viabilitas	IC ₅₀ $\mu\text{g/ml}$
1000	3,000	0,084	0,048	0,457	8,802	136,7 $\mu\text{g/ml}$
500	2,699	0,109			14,833	
250	2,398	0,176			31,296	
125	2,097	0,217			41,402	
62,5	1,796	0,323			67,319	
31,5	1,498	0,407			87,857	
15,65	1,195	0,517			114,670	

Keterangan: EETKD : Ekstrak Etanolik Tanaman Keladi Tikus

KM : Kontrol Media

KS : Kontrol Sel

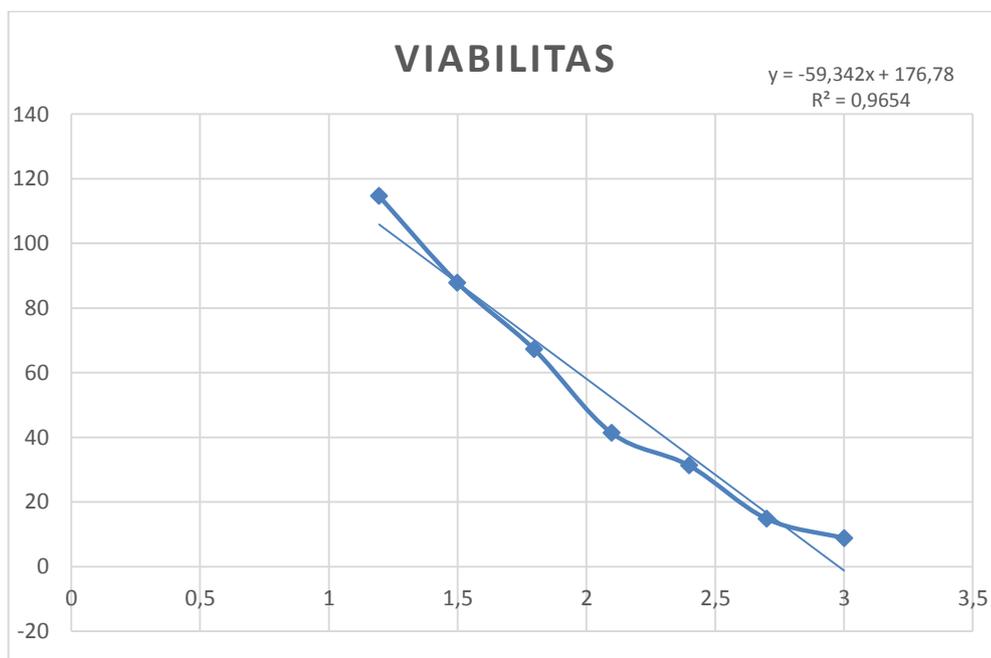
Berdasarkan data dari tabel 10, % viabilitas EETKD pada dosis 1000 $\mu\text{g/ml}$ didapatkan hasil 8,802%, sedangkan pada dosis EETKD 15,65 $\mu\text{g/ml}$ didapatkan hasil 114,670% atau lebih dari 100% artinya sel tidak mengalami kematian hal ini dimungkinkan karena konsentrasi yang terlalu kecil tidak berpengaruh pada kerusakan sel. Jadi dengan kata lain dapat diartikan bahwa semakin tinggi konsentrasi suatu ekstrak tanaman maka % viabilitas yang didapatkan semakin kecil, sehingga dapat disimpulkan bahwa sel mampu dihambat oleh ekstrak tanaman keladi tikus nilai IC₅₀ ekstrak etanol tanaman keladi tikus terhadap sel kanker hati HepG2 adalah 136,7 $\mu\text{g/ml}$, dengan nilai koefisien korelasi 0,954, hal ini menunjukkan adanya hubungan yang erat antara konsentrasi suatu ekstrak dengan % viabilitas sel.

American National Cancer Institute (NCI) menyebutkan bahwa kriteria ketoksikan suatu senyawa terhadap sel kanker adalah nilai IC₅₀ dengan kriteria sebagai berikut: nilai IC₅₀ \leq 20 $\mu\text{g/ml}$ = sangat aktif, 21- 200 $\mu\text{g/ml}$ = cukup aktif, dan 201-500 $\mu\text{g/ml}$ = lemah, dan berdasarkan hasil penelitian ini ekstrak etanol tanaman keladi tikus terhadap sel kanker hati HepG2 adalah termasuk dalam kategori cukup aktif atau dengan kata lain semakin kecil potensi sitotoksiknya terhadap sel kanker hati HepG2.

Sedangkan penelitian yang dilakukan oleh Lucie Widowati, (2009) menyebutkan bahwa nilai IC₅₀ ekstrak etanol tanaman keladi tikus pada sel kanker

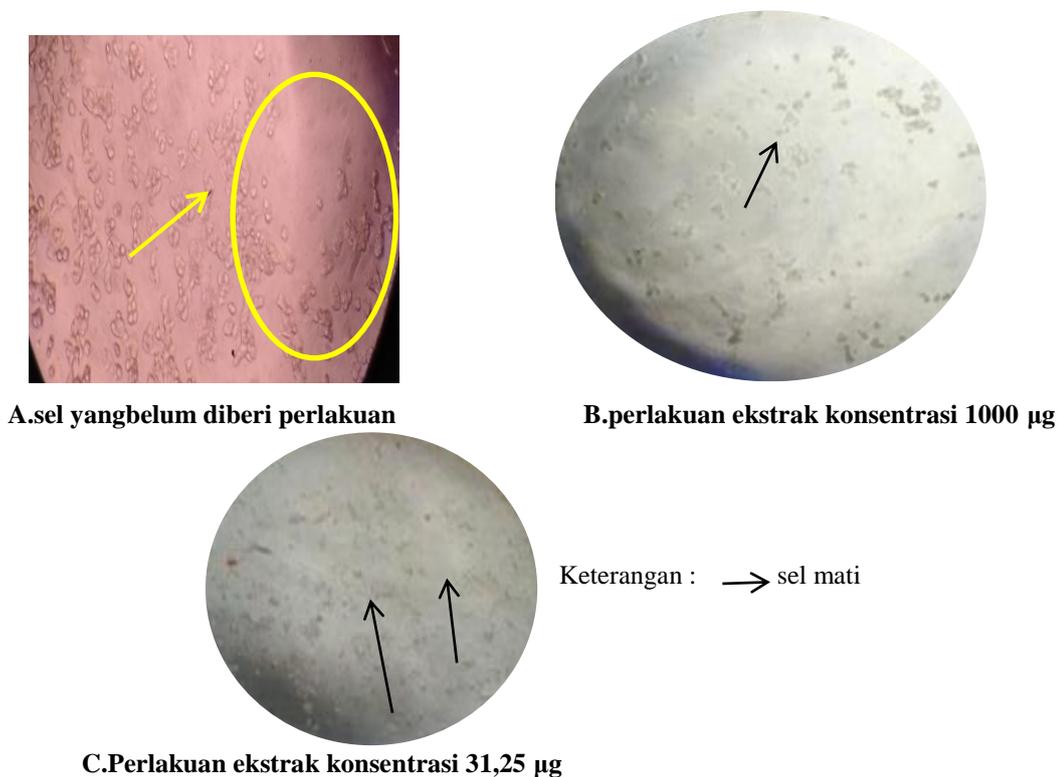
payudara MCF -7, adalah 89,16 $\mu\text{g/ml}$, yang masuk dalam kategori cukup aktif. Berdasarkan perolehan data terjadi perbedaan yang signifikan antara ekstrak etanol tanaman keladi tikus pada sel kanker hati HepG2 dan sel kanker payudara MCF- 7, hal ini dikarenakan proliferasi sel kanker hati HepG2 berjalan sangat lambat dibandingkan sel kanker payudara MCF-7.

Analisis dibuat dalam bentuk grafik persamaan regresi linier antara % viabilitas sel dengan log konsentrasi, didapatkan persamaan regresi linier $y = -59,342 X + 176,78$ dan diperoleh nilai IC_{50} sebesar 136,7 $\mu\text{g/ml}$. Data perhitungan IC_{50} selengkapnya dapat dilihat pada lampiran 8.



Gambar 10. Grafik yang menggambarkan hasil log konsentrasi dan % viabilitas sel pada ekstrak etanol tanaman keladi tikus terhadap sel kanker hati HepG2

Morfologi sel kanker hati HepG2 setelah perlakuan dengan ekstrak tanaman keladi tikus diamati menggunakan mikroskop *inverted* dan diabadikan dengan kamera dapat dilihat pada gambar 12.



Gambar 11. Morfologi Sel Kanker hati HepG2 sebelum dan sesudah perlakuan tunggal dengan ekstrak etanolik tanaman keladi tikus. (a) Sel kankerhati HepG2 tanpa perlakuan atau sebagai kontrol sel. (b) Sel kanker hati HepG2 dengan perlakuan ekstrak etanol tanaman keladi tikus konsentrasi 1000 µg/ml. (c) Sel dengan perlakuan ekstrak etanolik tanaman keladi tikus konsentrasi 31,25 µg/ml mengalami perubahan morfologi.

Pada penelitian uji sitotoksik ini digunakan sel kanker hati HepG2 sebagai model sel uji. Ekstrak etanolik tanaman keladi tikus yang diuji pada penelitian ini memberikan efek sitotoksik terhadap sel HepG2 hal ini ditandai dengan perubahan morfologi sel HepG2 dan terlihat pada gambar 12(b) dan 12(c) yang menunjukkan adanya kematian sel setelah perlakuan dengan menggunakan ekstrak etanol tanaman keladi tikus dengan konsentrasi 1000 µg/ml sampai konsentrasi 31,25 µg/ml, perubahan morfologi sel semakin tampak dengan peningkatan konsentrasi sampel uji, dilihat dari adanya sel yang mengkerut lebih kecil dengan bentuk sel tidak beraturan, dan pengurangan populasi sel, yang di pengaruhi oleh besarnya konsentrasi dari ekstrak.

10. Uji sitotoksik doxorubicin

Sebagai kontrol positif digunakan Doxorubicin, doxorubicin merupakan agen kemoterapi yang sering digunakan dalam pengobatan kanker. Dalam penelitian ini perlakuan tunggal menggunakan konsentrasi Doxorubicin antara lain 2, 1, 0,5, 0,25, 0,125, 0,0625, 0,03125 $\mu\text{g/ml}$, menggunakan metode yang sama dengan uji tunggal ekstrak etanol tanaman keladi tikus, dan dilakukan pengukuran absorbansi menggunakan Spektrofotometer Elisa pada panjang gelombang 595 nM untuk menentukan nilai IC_{50} Doxorubicin terhadap sel kanker hati HepG2. Data absorbansi doxorubicin perlakuan tunggal terhadap sel kanker hati HepG2 tercantum pada tabel 11 lampiran 9.

Tabel 11. Hasil Uji sitotoksik Doxorubicin terhadap Sel HepG2

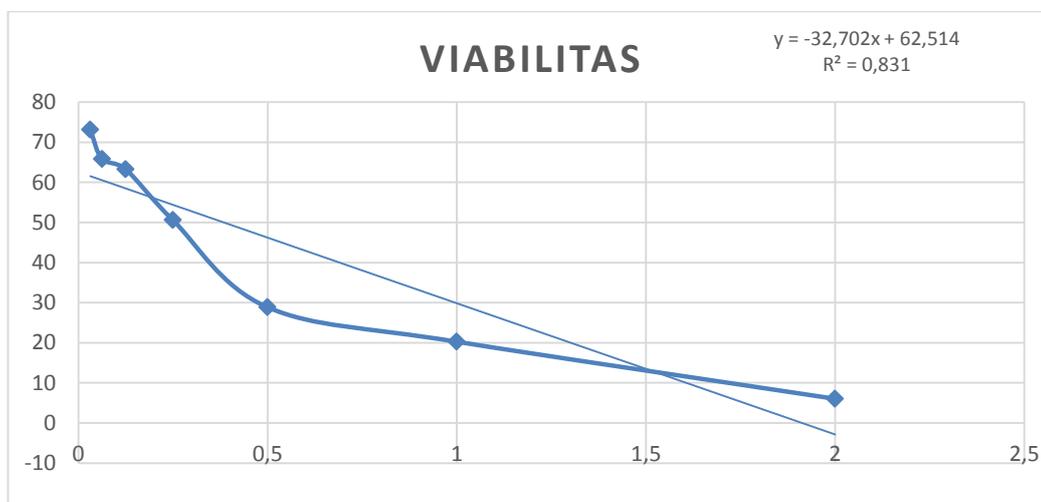
C($\mu\text{g/ml}$)	Rata-rata absorbansi	KM	KS	% viabilitas	IC_{50} $\mu\text{g/ml}$
2	0,105	0,069	0,671	6,035	0,3
1	0,191			20,266	
0,5	0,243			28,848	
0,25	0,373			50,554	
0,125	0,450			63,234	
0,0625	0,465			65,781	
0,03125	0,509			73,090	

Keterangan: EETKD : Ekstrak Etanolik Tanaman Keladi Tikus

KM : Kontrol Media

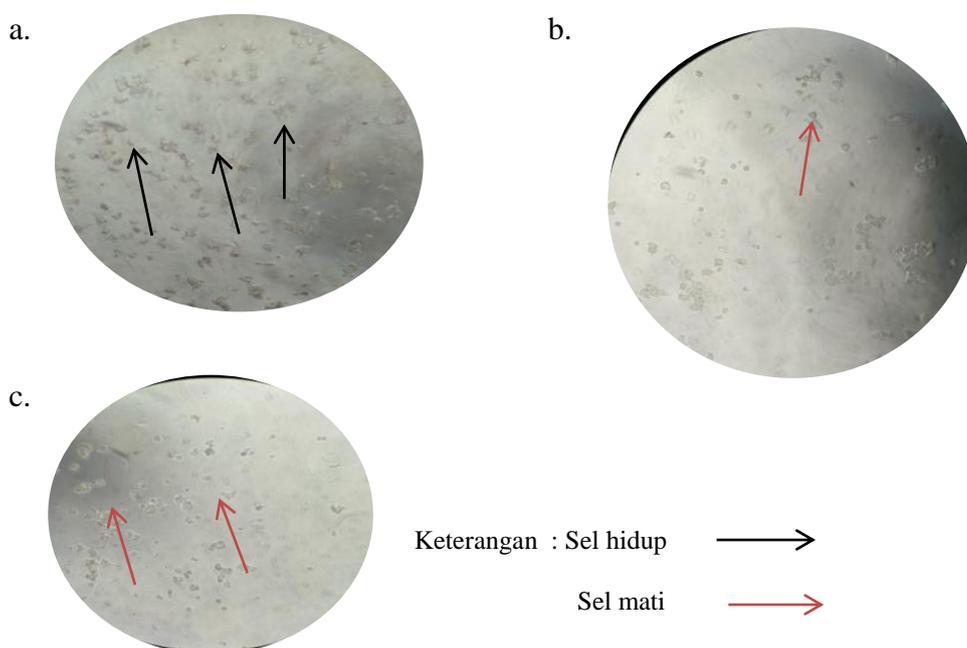
KS : Kontrol Sel

Analisis data dilakukan dengan regresi linier dan didapatkan persamaan regresi $y = -32,702x + 62,514$. Dari persamaan tersebut dapat dihitung nilai IC_{50} sebesar 0,3 $\mu\text{g/ml}$. Data perhitungan IC_{50} selengkapnya dapat pada lampiran 9.



Gambar 12. Grafik yang menggambarkan hasil log konsentrasi dan viabilitas sel pada Doxorubicin terhadap sel kanker hati HepG2

Morfologi sel kanker hati HepG2 dengan perlakuan tunggal Doxorubicin konsentrasi 2 μg dan 0,03125 μg menunjukkan efek sitotoksik (gambar 12). Sel berbentuk bulat, lonjong tidak beraturan yang mati akan mengkerut dan berbentuk tidak beraturan. Semakin tinggi konsentrasi doxorubicin semakin banyak sel yang mati. Perubahan morfologi sel kanker hati HepG2 dapat dilihat pada gambar 12.



Gambar 13. Morfologi Sel Kanker Hati HepG2 sebelum dan sesudah perlakuan dengan Doxorubicin tunggal. (a) Sel kanker hati HepG2 tanpa perlakuan atau sebagai kontrol sel. (b) Sel kanker hati HepG2 dengan perlakuan Doxorubicin konsentrasi 2 μg . (c) sel dengan perlakuan Doxorubicin konsentrasi 0,03125 μg .

Hasil pengamatan menunjukkan uji sitotoksik ekstrak etanol tanaman keladi tikus terhadap sel kanker hati HepG2 yang diinkubasi selama 24 jam memberikan hasil berupa penurunan % sel hidup yang linier dengan peningkatan konsentrasi ekstrak etanol tanaman keladi tikus. Berdasarkan uji sitotoksik ekstrak tanaman keladi tikus memiliki nilai IC_{50} 136,7 $\mu\text{g/ml}$, hal ini berarti ekstrak etanol tanaman keladi tikus mampu menghambat 50% sel kanker hati HepG2 dengan dosis ekstrak 136,7 $\mu\text{g/ml}$ dan dikategorikan cukup aktif .

Potensi ekstrak etanol tanaman keladi tikus dalam memacu apoptosis sel kanker hati HepG2 kemungkinan disebabkan oleh kandungan senyawa flavonoid dan alkaloid. Flavonoid dapat memacu apoptosis melalui mekanisme antara lain

menghambat aktifitas DNA topoisomerase I/II yang berperan dalam katalis pemutaraan dan relaksasi DNA, inhibitor enzim topoisomerase akan menyebabkan DNA terpotong dan mengalami kerusakan, sehingga menyebabkan terexpresinya protein proapoptosis Bax dan Bak, dan menurunkan ekspresi gen antiapoptosis Bcl -2 dan Bcl- XL, dengan demikian pertumbuhan sel kanker terhambat.

Alkaloid merupakan golongan zat tumbuhan sekunder yang terdapat di tanaman keladi tikus. Salah satu aktifitas senyawa alkaloid yang terbukti sebagai antikanker adalah antineoplastik yang bekerja dengan menghentikan prose pembelahan sel pada proses metafase, sehingga tidak terbentuk sel kanker yang baru.

Kontrol positif yang digunakan adalah Doxorubicin, mekanisme doxorubicin sebagai antikanker adalah dengan interkalasi dengan DNA dan menghambat topoisomerase II, kemudian memicu terjadinya kematian sel. sitotoksik doxorubicin sudah terlihat pada dosis yang lebih kecil daripada ekstrak etanol tanaman keladi tikus, nilai IC_{50} doxorubicin adalah 0,3 $\mu\text{g/ml}$ hal ini dapat diartikan bahwa doxorubicin dengan dosis 0,3 $\mu\text{g/ml}$ sudah dapat membunuh dan menghambat 50 % sel kanker hati HepG2.

Berdasarkan hasil pengamatan diatas perlu dilakukan penelitian lanjutan dengan menggunakan senyawa fraksinasi dari ekstrak etanol tanaman keladi tikus sehingga diharapkan tanaman tersebut mampu menjadi obat kemoprevensi maupun obat antikanker yang efektif.