Jurnal Pharmascience, Vol. 9, No. 2, Oktober 2022, hal: 258-270
ISSN-Print. 2355 – 5386
ISSN-Online. 2460-9560
https://ppjp.ulm.ac.id/journal/index.php/pharmascience
Research Article

Sitotoksisitas dan Selektivitas *In Vitro* Daun Benalu Cengkeh (*Dendrophthoe pentandra* L. Miq) terhadap Sel Kanker Serviks HeLa

Susilowati*, Truly Dian Anggraini, Nurul Kotimah

Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Nasional, Sukoharjo, Jawa Tengah, Indonesia
Email: susilowati@stikesnas.ac.id

ABSTRAK

Kanker serviks merupakan salah satu jenis kanker dengan tingkat kejadian dan kematian yang tinggi. Bahan alam dapat dianggap sebagai pendekatan yang menjanjikan untuk pengendalian dan manajemen kanker. Benalu cengkeh adalah salah satu tanaman parasit yang telah diketahui mengandung komponen anti kanker. Kuersetin dalam benalu cengkeh diyakini sebagai senyawa yang bertanggung jawab sebagai agen anti-kanker. Penelitian ini bertujuan untuk menguji sitotoksisitas dan selektivitas daun benalu cengkeh terhadap sel HeLa. Ekstraksi menggunakan metode maserasi dengan etanol 70% dan uji sitotoksik dievaluasi dengan metode MTT (3 (4,5-Dimethillitiazol-2-il) -2,5 diphenyltetrazolium bromide) pada model sel kanker Serviks HeLa dan model sel normal sel Vero. Efek sitotoksisitas diperoleh dari nilai IC50 dan selektivitas dinilai dari indeks selektivitas. Ekstrak etanol daun benalu cengkeh menurunkan viabilitas sel HeLa dengan potensi sitotoksik moderat (*IC_{50}* sebesar 43,90 µg / mL) dan selektivitas yang tinggi (*SI* sebesar 13,34), menunjukkan ekstrak tersebut berpotensi untuk dikembangkan sebagai produk biofarmasi. Penelitian lebih lanjut diperlukan untuk memastikan potensi antikankernya secara *in vivo* dan untuk menjelaskan mekanisme kerjanya pada tingkat molekuler dan biokimiawi.

Kata Kunci: Sitotoksik, Selektivitas, *Dendrophthoe pentandra,* Sel HeLa, Sel Vero, MTT

ABSTRACT

Cervical cancer is one of cancer type with a high incidence and mortality rate. Natural ingredients can be considered a promising approach to cancer control and management. Dendrophthoe pentandra is one of the parasite plants that has been known to contain anticancer component. Quercetin in Dendrophthoe pentandra is believed to be marker compound as an anticancer agent. The current study aims to detect cytotoxicity and selectivity of Dendrophthoe pentandra leaves against HeLa cell. The extraction using maceration method with 70% ethanol and cytotoxic test was evaluated by MTT (3 (4,5-Dimethillitiazol-

2-il) -2,5 diphenyltetrazolium bromide). The cytotoxicity effect was obtained from IC_{50} values and selectivity was assessed from selectivity index (SI). The ethanol extract of Dendrophthoe pentandra leaves reduces the viability of HeLa cells with moderate cytotoxic (IC_{50} of 43,90 µg / mL) and high selectivity (SI by 13,34) compared to normal vero cells, indicating its potential for biopharmaceutical use. Further studies are needed to ascertain its efficacy in vivo and to elucidate its mechanism of action at molecular and biochemical levels.

Keywords: Cytotoxicity, Selectivity, Dendrophthoe pentandra, HeLa Cells, Vero Cells, MTT

I. PENDAHULUAN

Kanker merupakan penyebab kematian utama kedua di dunia setelah penyakit kardiovaskuler dan kanker serviks merupakan salah satu jenis kanker yang paling umum pada wanita (WHO, 2018). Di Indonesia Kanker serviks merupakan kanker dengan tingkat kejadian dan penyebab kematian kedua setelah kanker payudara (WHO, 2019a). Angka kejadian kanker serviks tersebut adalah 23,4 per 100.000 penduduk dengan rata-rata kematian 13,9 per 100.000 penduduk. Berdasarkan data Riskesdas tahun 2018 menunjukkan adanya peningkatan angka kejadian kanker di Indonesia dari 1.4 per 1000 penduduk di tahun 2013 menjadi 1,79 per 1000 penduduk (Depkes RI, 2018). Hal ini menunjukkan, upaya pencegahan dan pengendalian kanker di Indonesia perlu dioptimalkan.

Metode pengobatan untuk kanker serviks diantaranya pembedahan, radioterapi dan terapi sistemik. Selain itu, terdaftar di WHO obat esensial sebanyak 30 sitotoksik dan adjuvant yang terbukti secara klinis efektif baik dari sisi khasiat, keamanan maupun biaya yang masih terjangkau. Berbagai metode pengobatan untuk melawan kanker serviks tersebut masih belum dapat menanggulangi tingkat kejadiannya. Hal ini ditunjukkan dengan masih tingginya tingkat kematian akibat kanker serviks sebesar 90% (WHO, 2019b). Berdasarkan hal tersebut, perlu untuk terus dilakukan penelitian guna memperoleh pengobatan kanker dengan efektifitas dan selektivitas yang tinggi.

Salah satu upaya pengobatan kanker dapat dilakukan diantaranya melalui eksplorasi tanaman obat yang diduga berkhasiat sebagai antikanker. Salah satu tanaman di Indonesia yang dapat dikembangkan sebagai agen antikanker adalah benalu. Benalu memiliki kandungan senyawa aglikon flavonoid kuersetin dengan potensinya sebagai antioksidan dan antikanker (Ikawati *et al*., 2008). Potensi antioksidan dan antikanker flavonoid kuersetin dalam benalu menunjukkan tanaman benalu merupakan agen yang cukup menjanjikan untuk dikembangkan sebagai antikanker. Benalu teh dan benalu mangga merupakan jenis benalu yang

masuk daftar calon fitofarmaka, sehingga benalu lain yang masih dalam satu family dengan benalu tersebut memiliki peluang untuk dikembangkan.

Benalu cengkeh merupakan salah satu jenis benalu yang diketahui mengandung flavonoid total sebesar 13,7021% *Quersetin Equivalen* dalam ekstrak methanol (Lekal & Watuguly, 2017). Aktivitas antioksidan dengan metode *DPPH free radical scavenging* menunjukkan ekstrak air dan ekstrak etanol benalu cengkeh memiliki potensi antioksidan yang kuat dengan nilai IC_{50} berturut-turut sebesar 11,4 µg/mL dan 6,8 µg/mL (Fitrilia, 2015). Antioksidan merupakan senyawa yang dapat menghambat *Reactive Oxygen Species (ROS)* yang menyebabkan terjadinya kerusakan sel sebagai salah satu pemicu terjadinya kanker manusia. Hasil penelitian Sammar, *et al*. (2019) menunjukkan aktivitas antioksidan dari hasil skrining 57 tanaman berbanding lurus dengan aktivitas sitotoksitasnya. Berdasarkan hal tersebut menunjukkan benalu cengkeh dapat dikembangkan selanjutnya melalui pembuktian aktivitasnya terhadap sel kanker terutama sebagai upaya penemuan agen terapi kanker serviks.

Upaya penemuan agen terapi terhadap kanker servik dari jenis benalu lain sejauh ini sudah dilakukan, akan tetapi aktivitasnya tergolong lemah. Aktivitas sitotoksik benalu belimbing dan benalu alpukat menunjukkan nilai IC_{50} secara berturut-turut sebesar 217.72 µg/ml dan 1000 ppm (Mutiah *et al*., 2017)(Mutiah *et al*., 2018). Berdasarkan uji toksisitas ekstrak etanol daun benalu cengkeh dengan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) menunjukkan nilai LD_{50} 1673,72 µg/mL (Elsyana *et al*., 2016) dan hingga sejauh ini potensi sitotoksiknya terhadap sel HeLa dan selektifitasnya terhadap sel normal belum dilaporkan. Pada penelitian ini akan dilakukan pemeriksaan aktivitas sitotoksik dari ekstrak etanol daun benalu cengkeh terhadap sel HeLa dan juga potensi keamananya pada sel normal Vero dengan metode MTT secara *in vitro.*

II. METODE

A. Preparasi Bahan

Benalu cengkeh yang digunakan dalam penelitian dideterminasikan di Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Tanaman Obat dan Obat Tradisional (B2P2TOOT) Tawangmangu, Karanganyar. Daun benalu cengkeh dipetik, disortasi basah, dicuci, kemudian dikeringkan di bawah sinar matahari dengan ditutup kain hitam selama 5 hari. Setelah kering, dilakukan sortasi kering dan daun kering dihaluskan dengan blender sampai berbentuk serbuk dan diayak dengan ayakan 65 mesh.

Sebanyak 50 gram simplisia daun benalu cengkeh dimaserasi dengan etanol 70% (LKPI) sebanyak 500 mL atau 10 kali berat sampel selama 3 hari sambil sesekali diaduk. Kemudian disaring dengan kain flanel untuk memisahkan filtrat dari ampas. Filtrat dipekatkan menggunakan *rotary evaporator* (IKA® RV10) dan dilanjutkan dengan diuapkan di atas *waterbath* (Memmert®) pada suhu 60ºC sampai diperoleh ekstrak kental.

B. Uji Kromatografi Lapis Tipis

Uji kromatografi lapis tipis dilakukan menggunakan sistem normal dengan fase diam lengpeng silika gel 60 F_{254} dan Fase gerak butanol, asam asetat dan air (5:1:1). Fase gerak tersebut diperoleh berdasarkan hasil optimasi rasio pelarut hingga diperoleh pemisahan yang terbaik. Profil KLT dideteksi di bawah UV_{254}, UV_{366} dan Uap Amonia.

C. Uji MTT terhadap sel HeLa dan sel Vero

Sitotoksisitas ekstrak daun benalu terhadap sel HeLa dan sel Vero ditetapkan dengan metode MTT (3 (4, 5 – Dimetillitiazol – 2 – il) - 2,5 difeniltetrazolium bromida). *Plate* 96 diinkubasi dalam inkubator CO2 (*Memmert*®) selama 24 jam (CCRC, 2013). Masing-masing seri konsentrasi sejumlah 100 µL dipindahkan ke dalam plate 96 yang telah berisi sel sebanyak 3 kali replikasi. Konsentrasi larutan uji ekstrak etanol daun benalu cengkeh terhadap sel HeLa yaitu 3,125µg/mL; 6,25µg/mL; 25µg/mL; 12,5µg/mL; 50µg/mL dan 100µg/mL, sedangkan pada sel Vero konsentrasi 15,625µg/mL; 31,25µg/mL; 62,5 µg/mL; 125 µg/mL; 250 µg/mL; 500 µg/mL dan 1000 µg/mL.

Data hasil pembacaan sitotoksik yang diperoleh dalam penelitian ini selanjutnya diuji menggunakan analisis probit untuk menentukan IC_{50} yang disajikan dalam grafik log konsentrasi versus perentase sel hidup. Potensi antikanker ekstrak berdasarkan *National Cancer Institute* (NCI) *guideline* : aktif (IC_{50} < 20 µg/mL), moderat aktif (20 µg/mL ≤ IC_{50} < 100 µg/mL), tidak aktif ($IC_{50} \geq 100$ µg/mL) (Bézivin *et al*., 2003). Nilai IC_{50} yang masih menunjukkan potensi antiproliferatif adalah <100 µg/mL (Kamuhabwa *et al*., 2000).

Selektifitas ekstrak etanol daun benalu cengkeh dapat diketahui dari nilai *Selectivity Index* (SI) yang diperoleh dengan membandingkan IC_{50} sel vero terhadap sel kanker serviks HeLa. Sampel yang memiliki nilai SI > 3 menunjukkan selektifitas yang tinggi dalam membunuh sel kanker dibandingkan sel normal vero (Bézivin *et al*., 2003).

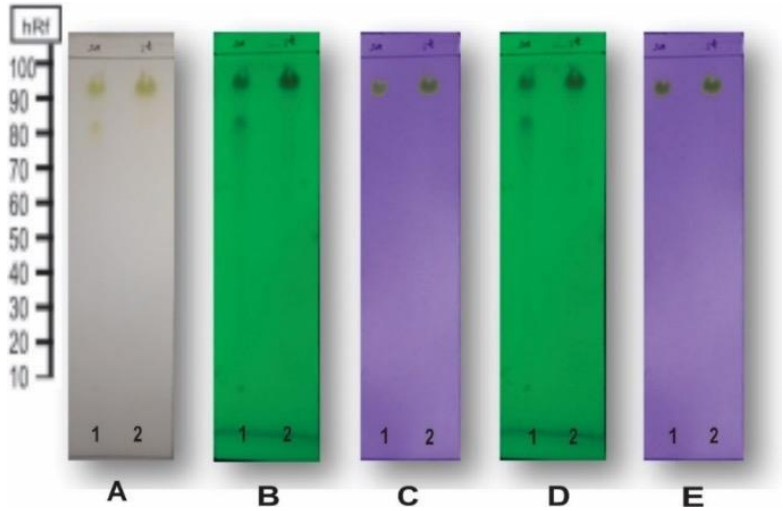
III. HASIL DAN PEMBAHASAN

Ekstrak etanol yang dihasilkan sebesar sebesar 8,46 gram dengan rendemen sebesar 16,92%. Organoleptis ekstrak berwarna hijau kecoklatan, kental dan berbau khas. Hasil ekstrak yang diperoleh dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor diantaranya metode yang digunakan, pelarut, temperatur, perbandingan pelarut serta lamanya waktu ekstraksi (Azwanida, 2015).

A. Hasil Uji Identifikasi Flavonoid

Identifikasi kandungan senyawa flavonoid pada ekstrak etanol daun benalu cengkeh dilakukan melalui uji kromatografi lapis tipis dengan fase gerak butanol, asam asetat dan air (5:1:1). Pemilihan fase gerak dilakukan berdasarkan hasil optimasi mendapatkan eluen yang memberikan hasil pemisahan yang paling baik. Eluen yang baik ialah eluen yang bisa memisahkan senyawa dalam jumlah yang banyak yang ditandai dengan munculnya noda. Noda yang terbentuk tidak berekor dan jarak antara noda satu dengan yang lainnya jelas (Harborne, 2006).

Berdasarkan hasil KLT pada Gambar 1 dan Tabel 1 menunjukkan ekstrak etanol daun benalu cengkeh mengandung senyawa flavonoid dimana salah satu diantaranya merupakan senyawa kuersetin. Pada *hRf* 91 menunjukkan warna spot yang sama di berbagai detektor dan *hRf* yang hampir sama dengan kuersetin (hRf 93). Hasil penelitian ini menunjukkan adanya kesesuaian dengan penelitian sebelumnya yang menunjukkan bahwa keursetin merupakan senyawa marker dari benalu (Ikawati *et al*., 2008). Selain itu, pada hRf 83 dengan warna lembayung gelap dan kuning kehijauan setelah diberi uap amonia pada UV 254 nm menunjukkan keberadaan senyawa flavonoid lain. Spot yang berwarna lembayung gelap dan setelah pemberian uap amonia berwarna kuning, hijau-kuning, atau hijau merupakan flavonoid 5-OH flavon atau flavonol (tersulih pada 3-OH dan mempunyai 4'-OH) atau 5-OH flavanon dan 4'-OH khalkon tanpa OH pada cincin B (Markham, 1988). Salah satu flavonoid lain yang telah diisolasi dari fraksi etanol daun benalu cengkeh adalah kuersitrin (Katrin *et al*., 2005). Hal ini menunjukkan senyawa flavonoid merupakan senyawa yang bertanggung jawab terhadap potensi yang ditimbulkan dari daun benalu cengkeh.



Gambar 1. Profil KLT ekstrak etanol daun benalu cengkeh (A) Profil KLT tanpa deteksi bercak (B) Profil KLT pada UV 254 nm (C) Profil KLT pada UV 366 nm (D) Profil KLT pada UV 254 nm setelah diberi uap amonia (E) Profil KLT pada UV 366 nm setelah diberi uap amonia 1) Ekstrak etanol daun benalu cengkeh 2) Standar kuersetin. Fase diam silika gel GF254; fase gerak Butanol:asam asetat: air (5:1:1)

Tabel I. Nilai hRf dan warna spot hasil KLT ekstrak etanol daun benalu cengkeh

Spot	Warna spot				hRf
	Sebelum diberi uap amonia		Sesudah diberi uap amonia		
	UV 254 nm	UV 366 nm	UV 254 nm	UV 366 nm	
1	Lembayung gelap	Kuning kehijauan	Kuning kehi-jauan	Kuning kehi-jauan	83
2	Kuning kehijauan	Kuning kehijauan	Kuning kehi-jauan	Kuning kehi-jauan	91
Standar kuersetin	Kuning kehijauan	Kuning kehijaun	Kuning kehi-jauan	Kuning kehi-jauan	93

Flavonoid diketahui memiliki aktivitas antioksidan yang mampu melindungi tubuh dari kerusakan oksidatif yang disebabkan oleh spesi oksigen reaktif atau ROS (*reactive oxygen species*). Apabila ROS dalam tubuh meningkat dapat menyebabkan stres oksidatif pada sel sehingga mengakibatkan kerusakan komponen seluler seperti lipid, protein dan DNA. Sel dengan stres oksidatif yang persisten merupakan ciri-ciri dari sel kanker (Trachootham, *et al*., 2009).

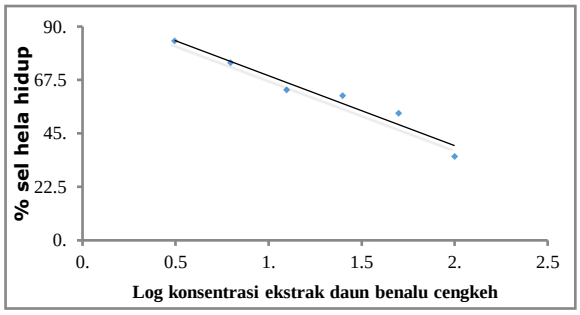
Senyawa antioksidan memiliki kemampuan sebagai *scavenger ROS*, penghambatan enzim dalam formasi ROS, dan mencegah peristiwa oksidasi seluler serta ekstraseluler (Zhang *et al*., 2015). Adanya penurunan jumlah ROS dapat menurunkan terjadinya proliferasi sel (Day *et al*., 2005) dan kematian sel kanker akibat

pengaruh agen sitotoksik menunjukkan lebih cepat dibandingkan sel dikarenakan memiliki respon stotoksik yang lebih sensitif (Hanley *et al*., 2005). Berdasarkan hal tersebut diharapkan ekstrak daun benalu cengkeh dengan kandungan flavonoid mampu melawan pertumbuhan sel kanker dengan selektif.

B. Sitotoksisitas dan selektifitas ekstrak daun benalu cengkeh

Sitotoksisitas ekstrak daun benalu cengkeh dalam penelitian ini diuji dengan metode MTT. Metode ini dapat digunakan untuk mengukur proliferasi sel secara kolorimetri. Metode ini berdasarkan pada perubahan garam *tetrazolium 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5diphenyl tetrazolium bromide* (MTT) menjadi kristal formazan dalam mitokondria yang aktif pada sel hidup. Kristal formazan yang terbentuk dapat dilarutkan dengan pelarut tertentu yang kemudian absorbansinya dapat dibaca dengan *microplate reader* (Meerloo *et al*., 2011).

Dalam penelitian ini, konsentrasi larutan uji ekstrak etanol daun benalu cengkeh terhadap sel HeLa yaitu 3,125 - 100µg/mL. Penggunaan konsentrasi pada zat uji tersebut berdasarkan orientasi konsentrasi sebelumnya. Berdasarkan Gambar 2 hasil uji pada konsentrasi terendah (3,125µg/mL) menunjukkan persentase kehidupan sel HeLa paling tinggi, sedangkan persentase kehidupan sel HeLa paling rendah terdapat pada konsentrasi tertinggi 100µg/mL. Persentase ini juga ditunjukan dengan warna larutan yang semakin memudar dari konsentrasi tertinggi ke rendah yang menandakan bahwa jumlah sel kanker banyak mengalami kematian dengan meningkatnya konsentrasi. Nilai korelasi sebesar 0.9774 menunjukkan hubungan linieritas antara pemberian ekstrak daun benalu cengkeh dengan persentase sel HeLa yang hidup, dimana koefisien R yang bernilai antara 0.800-1.000 menunjukkan korelasi yang sangat kuat (Sudjana, 2003). Hasil ini menunjukan adanya fenomena *dose de-pendent respone*, dimana efek sitotoksik meningkat seiring dengan meningkatnya konsentrasi ekstrak yang diberikan.

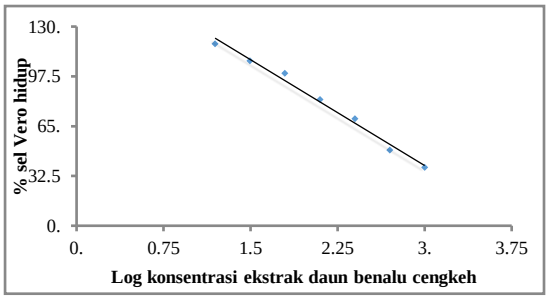


Gambar 2. Grafik hubungan rerata persentase kehidupan sel HeLa terhadap log konsentrasi ekstrak etanol daun benalu cengkeh

Hasil analisis probit ekstrak etanol daun benalu cengkeh terhadap sel HeLa menunjukkan nilai IC_{50} sebesar 43,90 µg/mL terhadap kanker yang menunjukkan

aktivitas dalam kategori moderat aktif terhadap sel kanker HeLa. Secara umum, batas IC_{50} yang masih memiliki potensi antiproliferatif adalah <100 µg/mL (Kamuhabwa *et al*., 2000). Hasil tersebut menunjukkan ekstrak daun benalu cengkeh berpotensi untuk dapat dikembangkan sebagai agen antikanker.

Pada Gambar 3 pemberian ekstrak etanol daun benalu cengkeh terhadap sel Vero juga menunjukkan fenomena *dose dependent respone* akan tetapi perlakuan dilakukan pada konsentrasi yang lebih tinggi (15,625 – 1000 µg/mL). Hubungan antara log konsentrasi ekstrak daun benalu cengkeh dengan persentase hidup sel Vero menunjukkan rumus regresi linier y = -46,038x + 177,41 (R= 0,9941) sehingga diperoleh nilai IC_{50} sebesar 585,46 µg/mL.

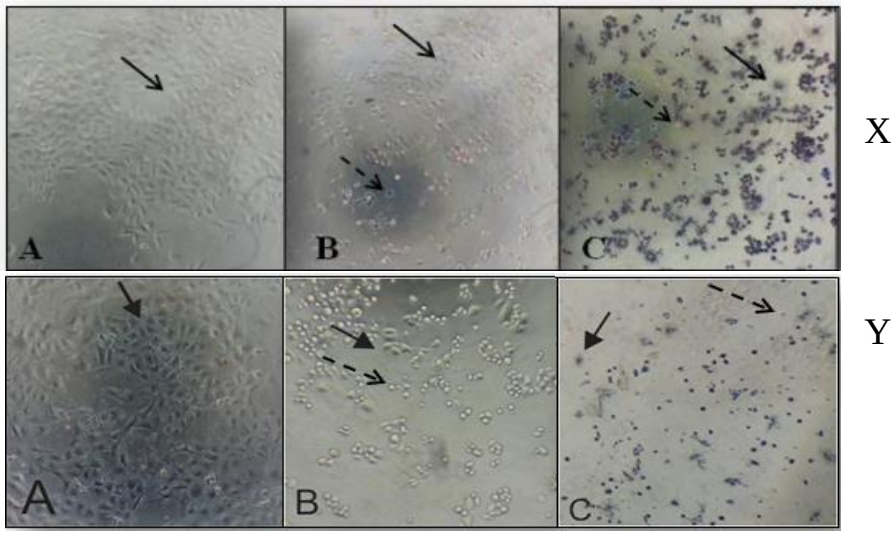


Gambar 3. Grafik hubungan rerata persentase kehidupan sel Vero terhadap log konsentrasi ekstrak etanol daun benalu cengkeh

Selektivitas ekstrak etanol daun benalu cengkeh terhadap sel *line* normal Vero dapat dilihat dari perolehan nilai *Selectivity Index*. Suatu ekstrak dikatakan mempunyai selektivitas yang tinggi apabila memiliki nilai *Selectivity Index* ≥ 3 (Bézivin *et al*., 2003). Nilai *Selectivity Index* ekstrak daun benalu cengkeh terhadap sel HeLa sebesar 13,34. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun benalu cengkeh mempunyai selektivitas yang tinggi sehingga aman terhadap sel normal. *Selectivity Index* agen kemopreventif artinya hanya sel yang diidentifikasi sebagai sel kanker saja yang dihambat, sementara sel *line* normal Vero tidak dihambat.

Aktivitas sitotoksik ekstrak etanol daun benalu cengkeh terhadap sel HeLa dapat diamati dari perubahan morfologi sel setelah 24 jam perlakuan. Pada Gambar 4 menunjukkan sel mengalami perubahan bentuk menjadi lebih bulat dengan kepadatan lebih rendah dibandingkan dengan kontrol sel. Morfologi sel HeLa yang hidup berbentuk memanjang seperti daun, melekat pada dasar sumuran dan dalam jarak yang saling berdekatan menggambarkan bahwa viabilitas sel yang baik, Kondisi sel HeLa yang mati ditunjukkan dengan sel tampak bulat berukuran lebih kecil, tak berinti, berwarna bening dan cenderung tersebar ataupun soliter, karena perlakuan pemberian ekstrak daun benalu cengkeh pada konsentrasi tinggi (100 µg/mL). Sel yang mati tidak dapat terwarnai oleh garam MTT sehingga tidak membentuk warna ungu seperti pada sel hidup. Mitokondria sel mati pada uji

sitotoksisitas tidak mampu berespirasi sehingga tidak menghasilkan enzim suksinat reduktase tetrazolium yang dapat mereduksi reagen MTT menjadi produk formazan. Pada morfologi sel Vero menunjukkan perubahan morfologi sel terlihat jelas setelah pemberian konsentrasi ekstrak yang tinggi (1000 µg/mL). Hal ini berkaitan dengan selektifitas ekstrak daun benalu cengkeh, sehingga membutuhkan konsentrasi yang lebih tinggi untuk dapat mempengaruhi sel Vero.



Gambar 4. Morfologi sel diamati dibawah mikroskop perbesaran 100x. gambar diambil dengan kamera canon lexus 100. (X)Morfologi sel Vero; (Y) Morfologi sel HeLa; (A) Morfologi sel pada kelompok control; (B) Morfologi sel setelah pemberian ekstrak (Sel HeLa pada ekstrak 100 µg/mL dan sel Vero pada 1000 µg/mL). (C); Sel setelah pemberian MTT. Keterangan à: sel hidup; - - > : sel mati.

Efek samping yang biasa muncul dari penggunaan obat kemoterapi salah satunya disebabkan karena kurang selektifnya agen tersebut dalam menghambat pertumbuhan sel. Agen tersebut dapat menyerang sel kanker dan juga sel normal, sehingga sel normal ikut rusak dan mati. Hal ini berbeda dengan cara agen kemopreventif dalam membedakan sel kanker dan sel normal dengan berdasarkan dari kebutuhan sel akan ATP (*Adenosine Trifosfate*) (Alali *et al*., 1999). Sel kanker bergerak, tumbuh dan berduplikasi lebih cepat dan aktif dibandingkan sel normal, sehingga sel kanker membutuhkan energi ATP dalam jumlah yang lebih banyak. Hal ini dapat dideteksi oleh agen kemopreventif, dimana agen tersebut dapat masuk ke dalam sel kanker dan menempel pada dinding dalam mitokondria untuk memblok produksi energi ATP. Akibatnya suplai energi untuk sel kanker terputus, sel kanker menjadi lemah dan akhirnya mati.

Aktivitas sitotoksik ekstrak etanol daun benalu cengkeh terhadap sel HeLa diduga dapat melalui jalur siklus sel maupun apoptosis yang disebabkan oleh kandungan metabolit sekunder dari daun benalu cengkeh yaitu flavonoid kuersetin. Diketahui kuersetin dapat bereaksi sebagai antikanker pada regulasi siklus sel, berinteraksi dengan reseptor estrogen (ER) tipe II dan menghambat enzim tirosin kinase (Lamson & Brignall, 2000). Kuersetin juga berperan dalam menekan ekspresi mutan protein p53. Pada kondisi *wild type*, protein ini merupakan protein yang penting dalam kontrol siklus sel, yaitu dengan memacu sel untuk berhenti atau apoptosis. Namun apabila terjadi mutasi maka protein ini menjadi sebuah penanda abnormalitas yaitu siklus memacu sel ke fase G2-M (penggandaan sel) dan apabila sel terus menerus pada fase ini maka akan terjadi proliferasi (pembelahan tak terkendali). Sel HeLa memiliki gen p53 dan p105Rb yang berbentuk *wild type* serta memiliki onkogen yaitu protein E6 dan E7. Aktivitas proliferasi yang berlebihan pada sel HeLa diakibatkan oleh ikatan antara protein E6 yang berikatan dengan gen p53 sehingga mempercepat degradasi p53 dan stimulasi aktivitas enzim telomerase. Protein E7 berperan dalam meningkatkan aktivitas poliferasi sel melalui hiperfosforilasi p105Rb (DeFilippis *et al*., 2003).

Proses penghambatan proliferasi terhadap sel kanker oleh ekstrak daun benalu cengkeh memang belum diketahui, akan tetapi mekanisme penghambatan dari ekstrak daun benalu manga dengan profil kandungan senyawa yang sama telah dilakukan. Penghambatan proliferasi sel kanker pada ekstrak daun benalu manga terjadi melalui dua mekanisme. Mekanisme pertama terjadi akibat penghambatan sintesis DNA yang terjadi akibat aktivasi Chk2 kinase oleh ekstrak daun benalu yang menyebabkan akumulasi P21. Akumulasi ini berujung pada hipopolarisasi Rb yang mencegah sekresi E2F1. Pencegahan ini mampu menghambat sintesis DNA. Mekanisme lain yang terlibat dalam antiproliferasi disebabkan oleh depolimerisasi mikrotubul yang berujung pada perubahan struktur sekunder tubulin. Perubahan ini menyebabkan kromosom mengalami kegagalan penataan dan pemisahan (Endharti *et al*., 2018). Selain 2 mekanisme tersebut, ekstrak daun benalu manga juga mampu menginduksi ekspresi p53 yang berguna untuk mengatasi inflamasi sel berlebih. Ekspresi protein p53 ini juga mencegah proliferasi sel kanker dengan menghambatnya pada fase S. Selain itu, daun benalu juga mampu mengurangi IL-22. Pengurangan IL-22 ini mampu meregresi keberadaan sel kanker payudara. Keberadaan kanker payudara mampu ditingkatkan

oleh bertambahnya jumlah IL-22. Penurunan jumlah IL-22 akan menyebabkan penurunan COX-2 dan sitokin proinflamasi. COX-2 berperan sebagai agen yang meningkatkan resistensi apoptosis, proliferasi, angiogenesis, inflamasi, invasi, dan metasis sel kanker (Endharti *et al*., 2016).

Daun benalu cengkeh merupakan tanaman yang berpotensi untuk dikembangkan menjadi agen kemopreventif dan kuratif. Hal ini didukung dengan sitotoksiksisitas daun benalu cengkeh yang tidak hanya perpotensi terhadap sel HeLa, namun juga menunjukkan efek sitotoksik kuat dan antiploriferasi terhadap sel kanker K562 (Sel kanker leukimia) dan MCM-B2 (sel kanker payudara) (Elsyana *et al*., 2016). Selain itu, daun benalu cengkeh juga mampu berperan sebagai immunomodulator. Tumbuhan ini dapat meningkatkan proliferasi splenosit dan timosit. Splenosit merupakan kelompok sel yang terdiri atas sel B sekitar 60% dan sel T sekitar 40%. sedangkan timosit tersusun atas hampir 99% sel T *mature*. Jumlah splenosit dan timosit yang meningkat ini mampu memperbesar potensi untuk perawatan sel kanker (Ang *et al*., 2014). Guna mendapatkan dasar ilmiah dalam pengembangan daun benalu cengkeh sebagai agen kemopreventif perlu dilakukan penelitian lebih lanjut terhadap mekanisme aksi dan senyawa aktif yang bertanggung jawab terhadap mekanisme tersebut.

IV. KESIMPULAN

Ekstrak etanol daun benalu cengkeh dengan kandungan flavonoid mempunyai aktivitas sitotoksik moderat aktif terhadap sel kanker serviks HeLa serta selektif terhadap sel normal vero. Penelitian lebih lanjut diperlukan untuk mengetahui mekanisme aksi ekstrak etanol daun benalu cengkeh dalam menghambat pertumbuhan sel kanker servik HeLa. Selain itu, hasil penelitian ini dapat digunakan sebagai dasar untuk pengembangan ekstrak etanol daun benalu cengkeh sebagai sediaan berbasis bahan alam yang dapat digunakan sebagai agen kemopreventif antikanker.

KONFLIK KEPENTINGAN

Semua penulis menyatakan tidak ada konflik kepentingan pada artikel ini.

UCAPAN TERIMAKASIH

Peneliti mengucapkan terimakasih kepada Lembaga Penelitian dan Pengabdian Kepada Masyarakat STIKES Nasional melalui Hibah Internal tahun 2021 yang diberikan untuk penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

Alali, F. Q., Liu, X.-X., & McLaughlin, J. L. (1999). *Annonaceous Acetogenins: Recent Progress*. *62*(3), 504–540. https://doi.org/https://doi.org/10.1021/np980406d

Ang, H. Y., Subramani, T., Yeap, S. K., Omar, A. R., Ho, W. Y., Abdullah, M.

P., & Alitheen, N. B. (2014). Immunomodulatory effects of Potentilla indica and Dendrophthoe pentandra on mice splenocytes and thymocytes. *Experimental and Therapeutic Medicine*, *7*(6), 1733–1737. https://doi.org/10.3892/etm.2014.1657

Azwanida, N. (2015). A Review on the Extraction Methods Use in Medicinal Plants, Principle, Strength and Limitation. *Medicinal & Aromatic Plants*, *04*(03), 3–8. https://doi.org/10.4172/2167-0412.1000196

Bézivin, C., Tomasi, S., Lohezic-Le Devehat, F., & Boustie, J. (2003). Cytotoxic activity of some lichen extracts on murine and human cancer cell lines. In *Phytomedicine* (Vol. 10, Issues 6–7, pp. 499–503). https://doi.org/10.1078/094471103322331458

Day, R. M. and Suzuki, Y. J., (2005) Cell Proliferation, reactive oxygen and Cellular glutathione, Vol 3; 425-442. https://doi.org/10.2203/dose-response.003.03.010

DeFilippis, R. A., Goodwin, E. C., Wu, L., & DiMaio, D. (2003). Endogenous Human Papillomavirus E6 and E7 Proteins Differentially Regulate Proliferation, Senescence, and Apoptosis in HeLa Cervical Carcinoma Cells. *Journal of Virology*, *77*(2), 1551–1563. https://doi.org/10.1128/jvi.77.2.1551-1563.2003

Depkes RI. (2018). Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. In *Kementerian Kesehatan RI* (p. 1).

Elsyana, V., Bintang, M., & Priosoeryanto, B. P. (2016). Cytotoxicity and antiproliferative activity assay of clove mistletoe (Dendrophthoe pentandra (L.) Miq.) leaves extracts. *Advances in Pharmacological Sciences*, *2016*. https://doi.org/10.1155/2016/3242698

Endharti, A. T., Wahyuningtyas, T. E., Hardini, Handono, K., Widjajanto, E., & Permana, S. (2018). Dendrophthoe pentandra leaves extract promotes apoptotic effects of doxorubicin in human breast cancer cell via modulation of intracellular calcium and survivin. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, *8*(8), 039–043. https://doi.org/10.7324/JAPS.2018.8806

Endharti, A. T., Wulandari, A., Listyana, A., Norahmawati, E., & Permana, S. (2016). Dendrophthoe pentandra (L.) Miq extract effectively inhibits inflammation, proliferation and induces p53 expression on colitis-associated colon cancer. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, *16*(1), 1–8. https://doi.org/10.1186/s12906-016-1345-0

Fitrilia, T. (2015). Ekstrak Daun Benalu Cengkeh (Dendrophthoe pentandra (L.) Miq) Sebagai Agen Antioksidan dan Antidiabetes Secara In Vitro. In *Sekolah Pascasarjana IPB*.

Hanley C, Layne J, Punnoose A, Reddy KM, Coombs I, et al (2008) Preferential Killing of cancer cells and activated human T cell using ZnO nanoparticles, *Nanotechnology* 19:295103

Harborne, J. B. (2006). *Metode Fitokimia Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan* (cetakan 4). Bandung ITB Bandung.

Ikawati, M., Wibowo, A. E., Sri, N., Octa, U., & Adelina, R. (2008). Pemanfaatan Benalu Sebagai Agen Antikanker. F*akultas Farmasi Universitas Gadjah Mada*, *May 2008*, 1–9.

Kamuhabwa, A., Nshimo, C., & De Witte, P. (2000). Cytotoxicity of some medicinal plant extracts used in Tanzanian traditional medicine. In *Journal of Ethnopharmacology* (Vol. 70, Issue 2, pp. 143–149). https://doi.org/10.1016/S0378-8741(99)00161-0

Katrin, Soemardji, A. A., Soeganda, A. G., & Soediro, I. (2005). Toksisitas akut isolat fraksi n -hexana dan etanol daun

Dendrophthoe pentandra (L .) Miq . yang mempunyai aktivitas imunostimulan The acute toxicity of isolates from n-hexane and. *Majalah Farmasi Indonesia*, *16*(4), 227–231.

Lamson, D. W., & Brignall, M. S. (2000). Antioxidants and cancer, part 3: quercetin. *Alternative Medicine Review : A Journal of Clinical Therapeutic*, *5*(3), 196–208.

Lekal, J. A., & Watuguly, T. (2017). ANALISIS KANDUNGAN FLAVONOID PADA TEH BENALU (Dendropohtoe pentandra (L .) Miq .). *Biopendix*, *3*(2), 154–158.

Markham, K. R. (1988). *markham* (ITB (ed.)). ITB.

Meerloo, J. van, Kaspers, G. J. L., & Cloos, J. (2011). Cell Sensitivity Assays: The MTT Assay. In *Methods in Molecular Biology* (Vol. 731). https://doi.org/10.1007/978-1-61779-80-5_14

Mutiah, R., Listyana, A., & Suryadinata, A. (2017). Aktivitas Antikanker Kombinasi Ekstrak Benalu Belimbing (Macrosolen cochinensis) dan Bawang Sabrang (Eleutherine palmifolia (L) Merr.) pada Sel Kanker Serviks (SEL HeLa). *Traditional Medicine Journal*, *22*(223), 146–152.

Mutiah, R., Suryadinata, A., & Nurani, P. S. (2018). UJI SITOTOKSIK KOMBINASI CISPLATIN DENGAN EKSTRAK ETANOL BENALU ALPUKAT (Dendrophthoe pentandra (L) Miq .) PADA SEL HELA dalam Roihatul Mutiah * , Arief Suryadinata , Prasasti Swara Nurani, CYTOTOXIC EVALUATION OF CISPLATIN IN COMBINATION WITH ET. *Majalah Kesehatan*, *5*(September), 133–143.

National Cancer Institute. Understanding Cancer series. Diakses dari http://www.cancer.gov 18 Januari 2018

Sammar, M., Abu-Farich, B., Rayan, I., Falah, M.,and Rayan, A., (2019) Correlation between cytotoxicity in cancer cells and free radical-scavenging activity: In vitro evaluation of 57 medicinal and edible plant extracts. *Oncology Letters* (Vol 18, Issue 6 page : 6563-6571)https://doi.org/10.3892/ol.2019.11054

Sudjana. (2003). *Teknik regresi dan korelasi bagi para peneliti*. Tarsito.

Trachootham D, Alexandre J, Huang P (2009) Targeting cancer cells by ROS mediated mechanisms: a radical therapeutic approach, *Nat Rev Drug Discoverry*, 8:579-591

WHO. (2018). *Ncd Who 2018*. Available from:https://www.who.int/health-topics/cancer#tab=tab_1

WHO. (2019a). Indonesia Source GLOBOCAN 2018. *International Agency for Research on Cancer*, *256*, 1–2.

WHO. (2019b). *WHO | Cervical cancer*. Available from: https://www.who.int/cancer/prevention/diagnosis-screening/cervical-cancer/en/

Zhang, Y., De Stefano, R., Robine, M., Butelli, E., Bulling, K., Hill, L., Rejzek, M., Martin, C., & Schoonbeek, H. J. (2015). Different reactive oxygen species scavenging properties of flavonoids determine their abilities to extend the shelf life of tomato. *Plant Physiology*, *169*(3), 1568–1583. https://doi.org/10.1104/pp.15.00346