

KAJIAN TERHADAP PROSPEK PENGEMBANGAN BAHAN BIOAKTIF BUAH MAHKOTA DEWA [*P. macrocarpa*.] SEBAGAI KANDIDAT *NEW CHEMICAL ENTITY* (NCE) UNTUK PENGOBATAN KANKER (SITOSTATIKA)

Vivi Lisdawati

Puslitbang Biomedis dan Farmasi, Badan Litbangkes.

Abstract. *In the last few years there are tendency for cancer study to develop in discovery of new chemical entity (NCE) for new drugs. The needed of NCE based on reality that cancer therapy reaches a resistant level very fast. By developing NCE, multiply cancer drugs can be used at one therapy and be implemented as a solution to inhibit a resistant level and very useful in recovery time.*

Natural products are the most important sources of NCE and could be used from plants, animals or minerals. Most of the natural products used in Indonesia are recognized from plants. Plants secondary metabolites show promise for cancer chemoprevention, which has been defined as the use of non cytotoxic nutrient or pharmacological agents to enhance intrinsic physiological mechanism that protect the organism against mutant clones of malignant cells. The study of plants secondary metabolites is nowadays moved from improvement of the empiric activity to meet the relationship between the structures of chemical compounds to its pharmacology activities. Development of study on plants in Indonesia is also pointed on discovery of NCE for new drugs of cancer and the cellular cytotoxic mechanism of the biological activity.

*Extracts from the fruit of *P. macrocarpa* is one of the sources for NCE of cancer drug in Indonesia. Some isolates already isolated from the extracts, i.e. lignan compound $C_{19}H_{20}O_6$: 5-[4(4-Methoxy-phenyl)-tetrahydrofuro[3,4-c]furan-1-yl]-benzene-1,2,3-triol and benzophenone compound: 4',6-dihydroksi-4-metoksibenzofenon-2-O-glukoside. Using chemotaxonomy Dahlgren and Cronquist system approached indicate that these compounds have anti proliferation and pro apoptotic as their cytotoxic activities. The pharmacology activities from the fruit extracts also have been studied. For cytotoxic activities, the fruit extracts showed IC_{50} values from 5 to 7.71. $\mu\text{g/ml}$ for leukemia L1210 cell line; and IC_{50} values 196.74 $\mu\text{g/ml}$ for HeLa cell line. The extracts also showed antioxidant activity with IC_{50} values 103.75 $\mu\text{g/ml}$ (most active level). Antihistamine activity showed 6.25; 12.5; 25; 50 and 100 %b/v doses could decrease the histamine control significantly ($p \leq 0.05$).*

*The review article is needed to support a development and improvement of the fruit extracts of *P. macrocarpa* to be considered as the most important sources of NCE for new cancer drug.*

*Key words: *P. macrocarpa*, new chemical entity, cytotoxic*

PENDAHULUAN

Kanker merupakan salah satu penyakit yang disebabkan oleh ketidaknormalan atau mutasi yang berkelanjutan dari sel kanker untuk terus melakukan

poliferasi memasuki jaringan maupun organ normal dan menyebar ke seluruh tubuh (*metastasis*) secara tersembunyi. ⁽¹⁾ Penyakit kanker sulit dideteksi secara dini karena proses lisis sel kanker terkadang terjadi dalam jumlah kecil sehingga tidak

memberikan sinyal yang jelas kepada enzim proapoptotik untuk melakukan proses apoptosis.^(2,3)

Tahun 2005 diperkirakan 7.6 juta orang meninggal karena kanker, setara dengan 13.1 persen dari seluruh kematian dunia. *World Cancer Congress* di Amerika pada bulan Juli 2006 bahkan menyatakan penyakit ini telah menjadi penyebab utama kematian di seluruh dunia. Berdasarkan *The Cancer Atlas*, jumlah kasus dan kematian akibat kanker akan terus meningkat. Perkiraan mencapai lebih dari 11 juta orang didiagnosis menderita kanker setiap tahun dan meningkat menjadi 16 juta pada tahun 2020. Sementara, kematian karena kanker yang saat ini sekitar 7,7 juta akan meningkat menjadi 9 juta pada tahun 2015 dan menjadi 11,4 juta pada tahun 2030. Data global menyebutkan lebih dari 70 persen kematian akibat kanker terjadi di negara berkembang.⁽⁴⁾

Hasil Survey Kesehatan Rumah Tangga (SKRT) Departemen Kesehatan tahun 1995 menunjukkan angka kematian akibat kanker di Indonesia berkisar 4,9 per seribu, sedangkan angka pola *Case Fatal Rate* (CFR) di rumah sakit pada tahun 2000 menunjukkan pasien neoplasma ganas korpus uteri mencapai 61,1% kasus dan neoplasma ganas esopagus mencapai 28,8 % kasus.^(5, 6) Badan Registrasi Kanker Ikatan Ahli Patologi Indonesia menyatakan pula bahwa kematian yang disebabkan oleh penyakit kanker menempati urutan ke 6 di Indonesia.^(7, 8)

Pengobatan terhadap kanker umumnya berupa pembedahan, radio terapi ataupun pemberian kemoterapi. Upaya pengobatan ini selain menghambat perkembangan sel kanker juga memberikan dampak ikutan terhadap sel normal dan menimbulkan efek samping yang menyebabkan kondisi pasien menjadi tidak

nyaman. Sampai saat ini masih sedikit sekali obat kanker selektif yang hanya bekerja terhadap sel yang mengalami mutasi, baik dalam tahap dini maupun tahap lanjut. Bila pun ada sitostatika selektif, karena penggunaan dalam jangka waktu yang panjang dan secara berkesinambungan maka resistensi terhadap sitostatika dapat timbul dan menjadi kendala baru. Oleh karena itu, untuk mengurangi efek ikutan yang tidak diinginkan dan faktor resistensi yang muncul dengan cepat, maka selektivitas senyawa obat terhadap sel kanker dan penggunaan sitostatika tidak secara tunggal dalam suatu mekanisme terapi sangat dibutuhkan. Penelitian pada tingkat selular dan molekular terhadap suatu *new chemical entity* (NCE) sitostatika menjadi jalan ke luar dari kebutuhan akan segala permasalahan tersebut di atas.^(1, 2)

Salah satu sumber utama senyawa obat di dunia berasal dari bahan alam. Pertemuan internasional Organisasi Kesehatan Dunia di Kobe tahun 2000 telah menyatakan bahwa bahan alam, khususnya tanaman, memegang peran penting dalam pengembangan ke arah NCE untuk berbagai penyakit yang ada.^(9, 10) *Metabolit sekunder* yang menjadi senyawa aktif dari bahan alam tumbuhan, dalam bentuk isolat murni ataupun ekstrak, dapat digunakan sebagai *lead compound* bagi optimalisasi sintesis.^(11, 12)

Aplikasi *bioassay* fraksinasi senyawa bioaktif tumbuhan tingkat tinggi (seperti ekstrak *bryophyte*) hingga memperoleh NCE, pertamakali dilakukan untuk uji perbaikan rekombinan senyawa mutan menggunakan ragi *Saccharomyces cerevisiae*. Aplikasi dilanjutkan dengan uji isolasi senyawa bioaktif dari ekstrak *methyl ethyl ketone* (MEK) beberapa tanaman di daerah Kenya. Pada penelitian tersebut berhasil diisolasi senyawa bio-

aktif golongan sterol yaitu *ergost-5-ene-3 β ,7 α -diol derivatives 1-3* yang memiliki aktivitas antikanker (Gbr.1). Uji penapisan ini kemudian menjadi acuan untuk memperoleh gambaran hubungan antara struktur senyawa dan aktivitas farmakologi. ⁽¹³⁾

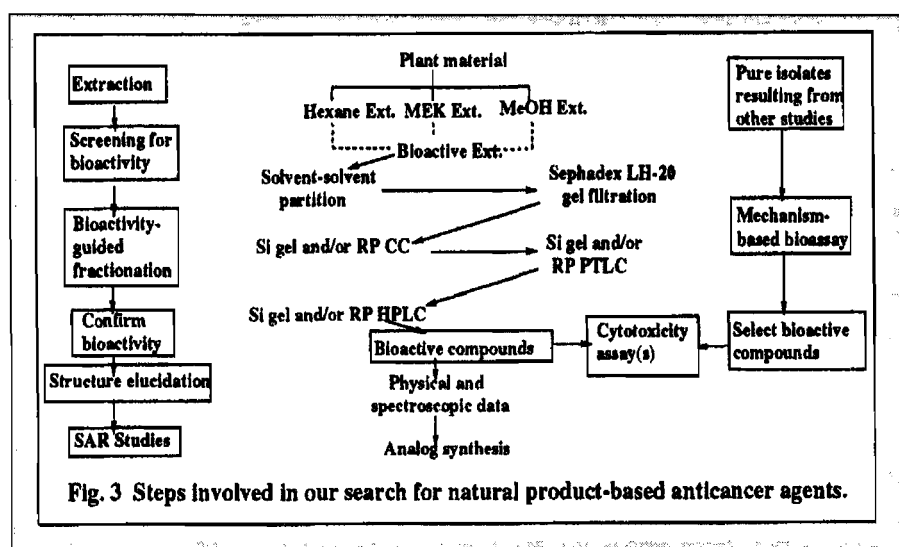
Di Indonesia, berbagai spesies tanaman secara empirik dapat dipakai mengobati penyakit kanker. Salah satu tanaman adalah mahkota dewa (*P. Macrocarpa*). Tanaman ini telah digunakan secara luas di masyarakat dalam bentuk sediaan jamu dan digunakan sebagai terapi alternatif bagi pengobatan semua jenis kanker. Penelitian ilmiah terhadap aktivitas sitostatika tanaman dan mekanisme antikanker secara selular hingga memperoleh *lead compound* selektif yang berguna ke arah optimalisasi sintesis belum dilakukan secara tuntas. Hal ini menyebabkan pemanfaatan tanaman mahkota dewa menjadi tidak maksimal. ⁽¹⁴⁾

Pada berbagai penelitian yang telah dilakukan, aktivitas biologi anti-kanker pada bagian buah tanaman

menunjukkan hasil yang signifikan lebih tinggi dibanding bagian tanaman yang lain. Tingginya aktivitas biologi dan besarnya *recovery* yang diperoleh pada saat ekstraksi bagian buah tanaman menjadi bahan pertimbangan dilakukannya suatu kajian terhadap manfaat ekstrak buah mahkota dewa sebagai sumber NCE sitostatika.

CARA KAJIAN

Kajian dilakukan terhadap hasil penelitian senyawa bioaktif dengan aktivitas anti kanker yang telah dilakukan sejak tahun 2001 sampai 2006 terhadap ekstrak buah mahkota dewa (*P. macrocarpa*) dari beberapa skripsi perguruan tinggi atau pun hasil penelitian lembaga penelitian lainnya, digabungkan dengan hasil penelitian fitokimia terkini secara literatur dan *searching on-line*. Kajian ditujukan sebagai bahan studi pustaka untuk proses pengembangan NCE dari tanaman mahkota dewa secara molekular untuk memperoleh tahap sintesa yang efektif dengan hasil yang optimal.



Gbr.1 Metode isolasi senyawa bioaktif dari bahan alam (Gunatilaka, A.A.L., David, G.I.K., Randall K.J. Mechanism-based isolation and structures of some anticancer active natural products. Pure & Appl. Chem. 1994; 66; 2222-2219)

Kanker

Kanker adalah penyakit yang merupakan hasil dari perubahan sistem regulasi pada gen yang mengontrol mekanisme proliferasi, diferensiasi dan pertahanan diri sel. Abnormalitas pada kanker pertama adalah akibat pertumbuhan yang tidak terkontrol pada tingkat proliferasi sel.^(1, 2) Secara selular, pertumbuhan ini merupakan multi tahap perkembangan sel. Mulai dari proses mutasi, kemudian seleksi sel untuk meningkatkan kapasitas proliferasinya dengan menaikkan ketahanan diri sel agar mampu terus berkembang (menurunkan ketergantungan sel terhadap faktor tumbuh dari luar), lalu tahap kemampuan sel untuk berinvansi ke sel normal (sekresi protease dan angiogenesis), serta terakhir melakukan proses metastasis. Proliferasi sel terdapat dalam beberapa fase pada siklus hidup sel, yaitu pada fase mitosis (M), pasca mitosis (G₁), fase sintesis DNA (fase S), dan fase pramitosis (G₂).^(15, 16)

Abnormalitas *kedua* adalah akibat kegagalan program kematian sel atau *apoptosis* yang secara integral menyebabkan sel kanker hidup lebih lama dibanding sel normal. Kegagalan ini akibat sel tidak melakukan mekanisme *apoptosis* terhadap sel yang mengalami kerusakan DNA, dimana jalur pembentukan enzim *Caspase-3* yang merupakan stimulan mekanisme *apoptosis* mengalami gangguan. Kegagalan mekanisme ini juga menyebabkan sel kanker resisten terhadap pengobatan secara iradiasi dan penggunaan sejumlah obat-obat kemoterapi yang bekerja dengan cara merusak DNA.^(17, 18) Pada kegagalan sistem *apoptosis*, sel memperpanjang tahap G₁ dan menghilangkan tahap G₀ (fase istirahat) pada siklus hidup sel sehingga sel terus melakukan replikasi dan diferensiasi. Kegagalan melakukan mekanisme *apoptosis* sangat berperan pada perkembangan sel tumor (jinak) menuju sel kanker

(ganas), karena DNA yang rusak akan terus menurunkan kerusakannya secara replikasi.^(1, 2)

Selain akibat kegagalan sistem regulasi pada gen, kanker juga dipicu oleh adanya gen spesifik (onkogen) yang memiliki kemampuan memicu transformasi pada sel yang mengalami mutasi. Onkogen umumnya diturunkan dari gen yang mengkode protein yang memacu mekanisme proliferasi pada sel normal. Gen ini disebut *proto-onkogen*, mis.: *src*, *ras*, dan *raf*. Sebagai contoh, Raf pada protein *proto-onkogen* terdiri dari domain amino-terminal (pengatur tumbuh) dan domain protein kinase karboksi-terminal. Sedangkan pada Raf protein virus onkogen, domain pengatur tumbuh dihilangkan dan digantikan dengan sekuense GAG. Akibatnya domain Raf kinase akan terus menerus aktif dan memicu transformasi sel sebagai dasar terbentuknya sel kanker.^(2, 15)

Beberapa contoh lain onkogen pada manusia adalah *c-myc* onkogen dari *Burkitt's lymphomas* dan *plasmacytomas* mencit yang berasal dari translokasi *c-myc* proto-onkogen pada kromosom 8 ke kromosom 14 pada lokus immunoglobulin yang menyebabkan proliferasi sel secara terus menerus. Onkogen ini memicu keganasan produksi antibodi B limfosit. Contoh lainnya adalah translokasi *abl* *proto-onkogen* dari kromosom 9 ke kromosom 22 pada leukemia myeloid kronik. Translokasi berupa perubahan Abl proto-onkogen protein digantikan oleh sekuense Bcr asam amino yang menyebabkan aktivitas tidak terkontrol dari *Abl protein-tyrosine kinase* menuju transformasi sel.^(1, 15)

Mekanisme kanker juga dipengaruhi oleh *tumor suppressor gene*. Jika *proto-onkogen* mengkode protein yang memacu pertumbuhan sel, maka *tumor suppressor gene* mengkode protein yang

akan menghentikan proliferasi sel. Contoh *tumor suppressor gene* yang pertama kali teridentifikasi adalah *Rb* gen yang berfungsi mencegah perkembangan sel tumor pada retinoblastoma. Yang kedua adalah *p53*, yang berfungsi mencegah propagasi sel yang secara genetik mengalami kerusakan dengan jalan menghentikan tahap G_1 dan menginduksi gen DNA repair untuk melakukan mekanisme apoptosis.^(1, 2)

Pengobatan kanker umumnya pembedahan, radio terapi ataupun pemberian kemoterapi. Selain tidak mengobati secara optimal juga selalu memberikan dampak ikutan terhadap sel normal dan menimbulkan efek samping yang menyebabkan kondisi pasien tidak nyaman.

Ditinjau dari siklus sel, obat sitostatika saat ini dapat digolongkan dalam 2 golongan. Yang pertama adalah yang memperlihatkan toksisitas selektif terhadap fase-fase tertentu dari siklus sel dan disebut zat *cell cycle-specific* (CCS), misalnya vinkristin, vinblastin, merkaptopurin dan metotreksat. Golongan kedua adalah zat *cell cycle-nonspecific* (CCNS), misalnya zat alkilator, antibiotik antikanker, dan sisplatin.⁽¹⁹⁾

Dengan mengacu pada mekanisme pemicu kanker dan penggolongan senyawa sitostatika di atas, maka kandidat untuk senyawa sitostatika baru diharapkan dapat bekerja paling tidak secara selular dengan cara menghentikan aktivitas proliferasi sel yang berlebihan dan menstimulasi mekanisme apoptosis dari sel kanker.

Senyawa Bioaktif Mahkota dewa (*P. macrocarpa*)

Tanaman mahkota dewa, *P. macrocarpa* (Scheff) Boerl., sinonim *P. papuana* Warb. Var. *Wichannii* (Val.) Back., merupakan tanaman yang banyak tumbuh di daerah Papua, Indonesia, dan

saat ini digunakan secara luas dalam pengobatan alternatif kanker. Sistematika tanaman tergolong ke dalam divisi *spermatophyta*, subdivisi *angiospermae*, kelas *dicotyledoneae*, bangsa *thymelaeales*, suku *thymelaeaceae*, marga *Phaleria*, dan jenis *Phaleria macrocarpa*.^(14, 20)

Beberapa tanaman dari famili *Thymelaeaceae* yang telah berhasil diisolasi dan memiliki aktivitas antikanker, a.l. yaitu: daphnoretin (flavon) dan syringaresinol (aromatik) dari tanaman *Wikstroemia elliptica* serta enkleine(5-Hydroxy-4,7-dimethoxybenz[g] isoquinolin-1(2H)-one,^{9Cl} dari tanaman *Enkleia siamensis*.⁽²¹⁾

Berdasarkan teori struktur dan aktivitas, mekanisme aksi farmakologis obat dibagi menjadi 2 kelompok, yaitu obat dengan *struktur non spesifik* dan obat dengan *struktur spesifik*. Obat *golongan pertama* mempunyai aksi farmakologis yang secara langsung tidak bergantung pada struktur kimia tetapi pada sifat fisika kimia yang akan mempengaruhi permeabilitas, depolarisasi membran, koagulasi protein, dan pembentukan kompleks. Sedangkan *golongan kedua*, aksi biologis obat secara esensial merupakan hasil dari struktur kimia yang menyesuaikan diri dengan struktur tiga dimensi reseptor untuk membentuk kompleks reseptor-obat.⁽¹⁹⁾

Pada ketiga senyawa isolat dari famili *Thymelaeaceae* di atas, golongan flavon dari *daphnoretin*, golongan aromatik dari *syringaresinol* dan golongan kuinolon dari isolat *Enkleia siamensis* termasuk ke dalam golongan senyawa kimia yang memiliki *struktur molekul spesifik* karena memiliki gugus aktif ester, fenol dan kuinolin yang dapat berpengaruh langsung terhadap reseptor di dalam tubuh. Gugus ini dapat bertindak sebagai substrat yang akan mengemblok reaksi

terkatalis enzim antiproliferasi (mis. *Rb* dan *p53*) atau menginduksi reaksi terkatalis enzim proapoptotik (mis: famili *Bcl*) untuk melakukan mekanisme apoptosis.⁽¹⁹⁾

Uji fitokimia buah mahkota dewa kemudian membuktikan adanya golongan alkaloid, flavonoid, fenol/polifenol, tanin dan senyawa sterol/terpenoid di dalam tanaman.⁽²⁰⁾ Seluruh golongan ini memiliki senyawa dengan struktur *molekul spesifik* dan telah terbukti bekerja sebagai derivat antikanker. Contoh senyawa-senyawa dari golongan tersebut di atas antara lain, golongan alkaloid *Catharantus* (vinblastin, vinkristin, dan vindesin) (*Vinca*), golongan polifenol *epipodophyllo* (etoposida dan teniposida), golongan terpenoid *takson* (pakslitaksel dan docetaksel) dan derivat *camptothecin* (kamptotekin dan irinotekan). Seluruh senyawa telah teruji memiliki mekanisme selular apoptosis dan antiproliferasi.⁽²¹⁾

Pada tahap fraksinasi ekstrak buah tanaman, data kromatogram dari fraksi etil acetat menunjukkan adanya senyawa spesifik yang selalu muncul di dalam setiap fraksi. Senyawa ini ditunjukkan oleh suatu noda kromatogram yang spesifik.⁽²²⁾ Data kromatogram ini membutuhkan penelitian lebih lanjut untuk dikembangkan ke arah penemuan senyawa penanda spesifik (*lead compound*) dalam ekstrak tanaman sebagai acuan standarisasi ekstrak. Bila keterulangan senyawa dapat secara konstan (realibilitas teruji) maka suatu senyawa penanda yang diharapkan kemungkinan dapat diperoleh.

Penelitian aktivitas antikanker secara *invitro* pada ekstrak kasar daging buah mahkota dewa fraksi non polar, semi polar dan polar diujikan terhadap sel leukemia *L1210*. Hasil menunjukkan bahwa fraksi semi polar (etil asetat) merupakan fraksi yang memiliki aktivitas inhibisi paling

tinggi terhadap perkembangbiakan sel leukemia *L1210* dengan nilai IC_{50} 5.76 $\mu\text{g/ml}$.⁽²¹⁾ Pada penelitian yang berbeda, ekstrak buah tanaman yang diujikan terhadap *cell line HeLa* menunjukkan potensi hambat dengan nilai IC_{50} 196.74 $\mu\text{g/ml}$.⁽²³⁾ Penelitian lain menunjukkan fraksi etanol daging buah mahkota dewa menunjukkan aktivitas sitotoksik terhadap sel kanker serviks *Ca Ski* dengan nilai IC_{50} 86,28 $\mu\text{g/ml}$.⁽²⁴⁾

Uji teratogenitas yang dilakukan terhadap infus daging buah tanaman menunjukkan hasil adanya efek teratogenitas terhadap tikus betina pada masa kehamilan hari ke 6-15.⁽²⁵⁾ Uji teratogenitas saat ini merupakan indikasi yang dipakai dalam melakukan penapisan terhadap senyawa baru sitostatika. Hal ini karena zat bioaktif yang diuji akan bekerja di siklus perkembangan sel dengan jalan mengaktifkan mekanisme apoptosis terhadap sel yang sedang tumbuh.

Keseluruhan fraksi ekstrak buah tanaman (polar, semi polar dan non polar) telah pula diuji untuk aktivitas antioksidan. Fraksi metanol (polar) daging buah menunjukkan nilai IC_{50} 103,75 $\mu\text{g/ml}$ dan digolongkan sebagai senyawa dengan aktivitas antioksidan sangat aktif.⁽²⁶⁾ Uji anti-histamin menggunakan metode modifikasi *magnus* terhadap infus buah dengan dosis 6.25; 12.5; 25; 50 dan 100 %b/v dapat mengurangi kontraksi histamin murni secara bermakna ($p \leq 0.05$).⁽²⁷⁾

Dari ekstrak etil asetat daging buah berhasil diisolasi senyawa lignan *C₁₉H₂₀O₆:5-[4(4-Methoxy-phenyl)-tetrahydrofuro[3,4-c]furan-1-yl]-benzene-1,2,3-triol*.⁽²²⁾ Dengan menggunakan pendekatan taksonomi/khemotaksonomi sistem *Dahlgren & Conqu Coast*, diperkirakan senyawa ini memiliki aktivitas sitostatika. Mekanisme sitostatika secara selular belum diteliti tetapi struktur senyawa memiliki

kesamaan dengan senyawa *syringaresinol* yang memiliki gugus aktif fenol serta mekanisme antiproliferasi-proapoptotik pada siklus sel kanker.⁽²⁸⁾

Senyawa lignan paling baru yang telah terbukti sebagai sitostatika secara *in-vitro* adalah senyawa *peperomins A, B, C, dan E, 7,8 - trans - 8,8' - trans - 7',8' - cis - 7,7' - bis(5-methoxy - 3,4 - methylenedioxyphenyl) - 8 - acetoxymethyl-8'-hydroxymetil - tetrahyhidrofuran, 7,8 -trans - 8,8' - trans - 7', 8' - cis - 7 - (5 - methoxy - 3,4 - methylenedioxyphenyl) - 7' - (4-hydroxy - 3,5 - dimethoxy-phenyl) - 8,8' diacetoxymetyltetra hydrofuran, sesamin, dan isoswertisin* yang diisolasi dari tanaman *Peperomia pellucida*; telah diujikan terhadap sel kanker HL-60, MCF-7, dan HeLa *cell lines*. Mekanisme selular membuktikan senyawa bekerja sebagai antiproliferasi dan proapoptotik.⁽²⁹⁾

Fraksi etanol ekstrak buah pada penelitian lain memberikan hasil isolasi senyawa *glukosida benzofenon 4',6-dihidroksi-4-metoksibenzofenon-2-O-glukosida*.⁽³⁰⁾ Mekanisme sitostatika senyawa secara selular belum diuji. Berdasarkan pendekatan secara taksonomi/khemotaksonomi sistem *Dahlgren & Congruist*, diperkirakan senyawa ini juga memiliki aktivitas sitostatika.

Suatu senyawa bioaktif baru juga harus menunjukkan data klinis *preliminary* yang aman untuk dikonsumsi. Uji keamanan terhadap ekstrak tanaman mahkota dewa telah meliputi uji toksisitas akut yang dilakukan terhadap ekstrak etanol 30% dan ekstrak air buah mahkota dewa menggunakan mencit. Hasil uji menunjukkan nilai LD₅₀ jauh di atas 15000 mg/kgBB, yang berarti masih menunjukkan batas aman untuk dikonsumsi dalam dosis terukur. Gambaran histopatologi pada hewan coba menunjukkan perubahan ringan pada hati yang bersifat *reversible* dan bukan

disebabkan oleh ekstrak yang diberikan. Uji toksisitas sub akut menunjukkan gambaran adanya mekanisme pertahanan tubuh pada mencit yang ditimbulkan oleh senyawa yang diujikan.^(31, 32) Hasil ini dapat menjadi landasan untuk melakukan pengujian lebih lanjut terhadap aktivitas immuno-modulator alami tanaman.

Mengacu pada seluruh data pre klinis di atas terbukti bahwa bahan bioaktif dari buah tanaman mahkota dewa memiliki prospek tinggi untuk dikembangkan ke arah NCE sitostatika. Aktivitas selular senyawa bioaktif sebagai antiproliferasi dan proapoptotik adalah nilai tambah untuk pengembangan bahan bioaktif tanaman ke arah kandidat senyawa sitostatika spesifik. Dengan mengetahui jalur biosintesis dari enzim yang merangsang terjadinya mekanisme antiproliferasi dan proapoptotik pada *cancer cell line* maka pengembangan senyawa kimia sitostatika dalam ekstrak buah tanaman mahkota dewa juga membutuhkan penelitian biokimia lebih lanjut. Apakah senyawa bioaktif tanaman dapat merangsang enzim yang bekerja pada jalur mekanisme antiproliferasi atau lebih merangsang aktivitas enzim pada mekanisme apoptotik.

Hipotesis awal kajian berdasarkan data kromatogram fraksi adalah ekstrak buah tanaman dapat distandardisasi. Berdasarkan data aktivitas selular senyawa bioaktif yang berasal dari famili yang sama maka senyawa bioaktif ekstrak buah memiliki kerja apoptosis dan antiproliferasi selektif yang tinggi terhadap *cancer cell line* spesifik. Berdasarkan data elusidasi struktur maka fraksi aktif ekstrak buah juga dapat memberikan isolat murni yang dapat ditentukan struktur senyawanya secara spektrofotometri.

Beberapa tahap pengujian yang dapat dilakukan untuk penapisan kandidat NCE dari ekstrak tanaman buah mahkota

dewa mengikuti alur metode *Gunalatika* adalah sebagai berikut:

Tahap I:

Meliputi *uji standarisasi ekstrak, uji skrining aktivitas sitostatika dan uji mekanisme selular fraksi*. Beberapa uji ini akan memberikan hasil berupa fraksi paling aktif sitostatika berdasarkan hasil ekstraksi dari ekstrak terstandar. Ekstrak terstandar yang dimaksud sesuai acuan Pedoman Pengujian Mutu Obat dari Badan Pemeriksaan Obat dan Makanan (BPOM) meliputi antara lain: ekstrak dari daerah tempat tumbuh terbaik, waktu panen terbaik/umur buah, persyaratan kadar tertentu dari tanaman sesuai literatur yang ada. Pengujian aktivitas sitostatika dilanjutkan hingga dapat menentukan mekanisme kerja selular yang jelas dari bahan senyawa aktif. Berdasarkan nilai IC_{50} dari hasil penelitian terdahulu maka aktivitas fraksi semi polar dari ekstrak buah tanaman menunjukkan fraksi paling aktif. Penelitian *standarisasi ekstrak* dilakukan secara kimia, fisika, dan fisiko-kimia terhadap ekstrak 3 tanaman yang berasal dari 3 tempat tumbuh yang berbeda. Standarisasi juga diupayakan untuk memperoleh suatu *lead compound* dalam tanaman seperti misalnya: kadar saponin, data kromatogram spesifik, dan lain-lain. Pada *uji skrining aktivitas sitostatika fraksi* dapat dilakukan terhadap beberapa jenis *cancer cell line* untuk melihat nilai IC_{50} tertinggi yang ditimbulkan oleh fraksi tertentu. Dilanjutkan dengan menggunakan teknik analisis selular terhadap aktivitas fraksi tersebut, misalnya: menggunakan instrumen *Fluorescence Flow Cytometer* (FFC) terhadap beberapa kultur *cancer cell line* yang dibandingkan dengan sel normal dan senyawa kontrol Doksorubisin guna mengetahui mekanisme aktivitas selular apoptosis dan antiproliferasi dari fraksi terhadap siklus hidup sel kanker. Atau dapat

juga dilakukan penelitian biokimia menggunakan metode gabungan *immunofluorescence* dan *immunoblotting* untuk lebih memahami enzim-enzim yang teraktivasi oleh senyawa bioaktif di dalam ekstrak buah tanaman. (2, 18, 22)

Tahap II:

Meliputi *isolasi* senyawa murni dari fraksi paling aktif secara kualitatif berdasarkan data kromatogram dan data spektra satu dimensi FTIR, UV-Vis, 1H - dan ^{13}C - RMI serta GC/LC-MS. Dilanjutkan dengan uji mekanisme kerja sitostatika terhadap masing-masing isolat secara selular. Pengujian dilakukan untuk memperoleh senyawa murni yang menjadi kandidat *NCE*. (11, 22)

Tahap III:

Elusidasi struktur senyawa murni dari isolat aktif secara kualitatif berdasarkan data kromatogram dan data spektra satu dimensi FTIR, UV-Vis, 1H - dan ^{13}C - RMI serta GC/LC-MS. Dan untuk stereokimia isolat digunakan menggunakan data spektra dua dimensi 1H , 1H dan ^{13}C , ^{13}C -COSY, TOCSY maupun NOESY RMI. (22)

PERMASALAHAN

Pemanfaatan buah mahkota dewa (*P. macrocarpa*) telah digunakan secara luas di masyarakat sebagai alternatif pengobatan untuk penyakit kanker. Beberapa penelitian terdahulu terhadap uji aktivitas sitostatika menunjukkan ekstrak buah tanaman terbukti secara pre klinis memiliki efek sitostatika dan dari ekstrak buah telah berhasil diisolasi berbagai isolat murni yang juga terbukti memiliki efek sitostatika terhadap kultur *cancer cell line*. Penelitian uji keamanan ekstrak menunjukkan ekstrak memiliki batas keamanan yang tinggi bila digunakan dalam dosis terukur. (32)

Sampai sejauh ini penelitian terhadap mekanisme sitostatika secara selular terhadap *cancer cell line* tertentu yang dibandingkan dengan sel normal dan kontrol dari ekstrak terstandar tanaman mahkota dewa belum dilakukan secara simultan. Penelitian simultan terhadap mekanisme selular pada *cancer cell line* dibutuhkan oleh suatu senyawa kandidat sitostatika untuk pengembangan ke arah target senyawa selektif dalam tubuh. Sedangkan standarisasi ekstrak akan menjamin kepastian mutu bila akan dilakukan biosintesis isolat berdasarkan *lead compound* dari fraksi tanaman. Elusidasi struktur dibutuhkan untuk optimalisasi aktivitas antikanker dan selektivitas reseptor target dalam tubuh.

Permasalahan yang harus dijawab yang juga merupakan dasar dilakukannya kajian terhadap pengembangan senyawa bioaktif dalam ekstrak buah tanaman mahkota dewa adalah sebagai berikut:

1. Apakah ekstrak tanaman dapat distandardisasi dan dapat menunjukkan suatu *lead compound* spesifik?
2. Apakah fraksi semi polar buah mahkota dewa memiliki aktivitas sitostatika yang tinggi (*base line* $IC_{50} \leq 10 \mu\text{g/ml}$) terhadap *cancer cell line* tertentu dibandingkan dengan sel normal dan senyawa kontrol?
3. Apakah aktivitas sitostatika fraksi memiliki mekanisme selular apoptosis dan antiproliferasis serta mempengaruhi siklus hidup sel kanker tertentu?
4. Apakah dari fraksi semi polar yang paling aktif terhadap *cancer cell line* tertentu dapat diisolasi senyawa kimia murni dan dapat ditentukan struktur senyawanya untuk langkah biosintesis di kemudian hari? Dan apakah

senyawa memiliki aktivitas sitostatika tinggi?

Jawaban atas seluruh pertanyaan penelitian di atas akan diperoleh bila dilakukan penelitian simultan dari hulu hingga ke hilir terhadap ekstrak buah tanaman. Penelitian sangat membutuhkan kolaborasi kuat, baik dalam suatu departemen penelitian maupun dengan melakukan penelitian secara lintas sektor. Kerja sama dimaksudkan agar tidak terjadi saling tumpang tindih dalam tahap penelitian guna mempersingkat waktu penelitian dan memperoleh hasil yang optimal.

DAFTAR RUJUKAN

1. Cooper, G.M., Hausman, RE. *The Cell: A Molecular Approach*. Washington D.C. USA: ASM Press; 2004.
2. Esteller, M. Minireview: Epigenetic provides a new generation of oncogenes and tumour-suppressor gene. *British Journal of Cancer*. 2006; 94(2): 183-179.
3. Chang, Y., Chang, S., Lee, H., Doong, S., Takada, K., Tsai, C. Inhibition of the Epstein-Barr virus lytic cycle by Zta-targeted RNA interference. *J. of General Virology*. 2004; 85: 1379-1371.
4. International Agency for Research on Cancer. 2007 Annual World Cancer Data update. <http://www.2006conferences.org/u-index.php>. Access on February 23, 2008.
5. Departemen Kesehatan RI. *Survey Kesehatan Rumah Tangga (SKRT)*. Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan. Jakarta: 1997.
6. Departemen Kesehatan RI. *Pusat Data Kesehatan: Profil Kesehatan Indonesia 2001 – Menuju Indonesia Sehat 2010*. Jakarta: 2002.
7. Jaja, S., S. Soemantri, R. Budiarmo, A. Suwandono, A. Lubis, J. Pradono, Y. Wiryawan. *Statistik Penyakit Penyebab Kematian – SKRT 1995*. Balitbangkes, Depkes RI. Jakarta: 1999.
8. POKJA Kanker FKUI – Bid. Registrasi Kanker. *Kanker di RS Umum Pusat Nasional DR Cipto Mangunkusumo Tahun 1999*: 1.

9. Moeloek, F.A. Herbal and traditional Medicine: National Perspectives and policies in Indonesia (Obat herbal dan tradisional: Perspektif dan kebijakan Nasional di Indonesia). Jurnal bahan Alam.2006; 5 (1): 297-293.
10. WHO – Traditional Medicine. Better Science, Policy and Service for Health Development. WHO Kobe Centre.2000: 52-45.
11. Cutler, S.J. and Cutler, H. Biologically, Active Natural Product: Pharmaceutical. Boca Raton, USA: CRC Press LLC; 2000.
12. Dalimartha, S. Ramuan Obat Tradisional untuk Pengobatan Kanker, Jakarta: Swadaya. 2000.
13. Gunatilaka, A.A.L., David, G.I.K., & Randall K. J. Mechanism-based isolation and structures of some anticancer active natural products, Pure & Appl. Chem. 1994; (6): 2219-2222.
14. Harmanto, N. Mahkota Dewa: Obat Pusaka Para dewa. Jakarta: AgroMedia Pustaka; 2001.
15. Denmeade, S.R., & Isaacs, J.T. Programmed Cell Death (Apoptosis) and Cancer Chemotherapy, Cancer Control Journal. 2003;4-3.
16. Fearon, E.R. Human Cancer Syndrome: Clues to the Origin and Nature of Cancer, Science. 1997.
17. Sellers, W.R., & Fishers, D.E. Apoptosis and Cancer Drug Targeting, The Journal of Clinical Investigation. 1999; (104):1661-1655.
18. Neise, D., *et al.* Activation of the mitochondrial death pathway is commonly mediated by a preferential engagement of Bak. Oncogene. 2008;(27): 1396 – 1387.
19. Foye, WO. Principles of medicinal Chemistry, Sixth ed. (edited by Thomas L. Lemke). C.H.I.P.S.; 2008.
20. Lisdawati, V., S. Wiryowidagdo, L.B.S., Kardono. Brine Shrimp Lethality Test(BSLT) dari Berbagai Fraksi Ekstrak Daging Buah dan Kulit Biji Mahkota dewa (P. Macrocarpa). Buletin Penelitian kesehatan: 2006; 34 ;(3): 118-111.
21. Lisdawati, V., S. Wiryowidagdo, L.B.S., Kardono. Bioasai in vitro Antikanker Terhadap Sel Leukemia L1210 dari Berbagai Fraksi Ekstrak Daging Buah dan Kulit Biji Mahkota dewa (P. Macrocarpa). Jurnal Bahan Alam Indonesia. 2006;5(1): 309-303.
22. Lisdawati, V., S. Wiryowidagdo, L.B.S., Kardono. Isolasi dan Elusidasi Struktur Senyawa Lignan dan asam lemak dari Ekstrak Daging Buah *Phaleria macrocarpa*. Buletin Penelitian Kesehatan. 2007;35(3): 124-115.
23. Sumastuti, R. Sonlimar, M. Efek Sitotoksik Ekstrak Buah dan daun Mahkota Dewa [*Phaleria macrocarpa* (Scheff.) Boerl.] terhadap sel HeLa. Medika. 2002;12(xxviii): 777-773
24. Mudahar, H., W., Lelly, D. Sinta. Jurnal Bahan Alam Indonesia. 2005; 4: 279–275.
25. Junarko, I. Teratogenitas Perasan dan Infusa daging Buah Segar Makuto Dewo 23. Sumastuti, R. Sonlimar, M. Efek Sitotoksik Ekstrak Buah dan daun Mahkota Dewa [*Phaleria macrocarpa* (Scheff.) Boerl. pada tikus putih. Jurnal farmasi Sains & Komunitas. 2003; 1(2): 88-79.
26. Lisdawati, V., L.B.S., Kardono. Aktivitas antioksidan dari berbagai ekstrak Daging Buah dan kulit biji Mahkota Dewa (P. Macrocarpa). Media Penelitian dan pengembangan kesehatan. 2006;35(3): 7-1.
27. Sumastuti, R. Efek Antihistamin Ekstrak Daun dan Buah Mahkota Dewa [*Phaleria macrocarpa* (Scheff.) Boerl.] pada illeum Marmot Terpisah. FK-UGM. Yogyakarta.2000;15-1.
28. Dewick, PM. Medicinal Natural Product. John Willey Son Ltd., England. 1997.
29. Xu S, *et al.* Bioactive compounds from *Peperomia pellucida*. J Nat Prod. 2006;69(2):247-50.
30. Hakim, R.W., *dkk.* Glukosida Benzofenon dari Buah Merah Mahkota Dewa *Phaleria macrocarpa* Serta Uji Aktivitas Terhadap DPPH dan Sel Murin Leukemia P-388, Bull Soc. Nat Prod Chem, Indonesia. 2004; 4: 70-67.
31. Sulistiyani, Hasim, Evrizal, AMZ. Toksisitas Buah Mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa*). Abstrak: Seminar Nasional Tumbuhan Obat Indonesia XXI, Surakarta. 2006;65.
32. Widowati, L. Kajian Hasil Penelitian Mahkota Dewa. Jurnal Bahan Alam. 2005; 4(1):227-223.