

Efek Antiproliferatif Ekstrak Etanol Daun Dan Kulit Batang Tanaman Cangkring (*Erythrina Fusca* Lour.) Terhadap Sel HeLa

Antiproliferative Effect of The Bark and Leaves of *Erythrina Fusca* Lour Against HeLa Cells

Edy Meiyanto, Sisindari, Lany Candra dan Moordiani

Fakultas Farmasi Universitas Gadjah Mada

Abstrak

Erythrina fusca Lour yang dikenal sebagai tanaman cangkring, banyak digunakan masyarakat sebagai obat tradisional untuk mengobati gabag, cacar air, gatal-gatal, hepatitis bisul, dan kanker. Untuk mengetahui kecenderungan mekanisme aksi anti kanker tanaman tersebut maka diteliti efek antiproliferatif ekstrak etanol daun dan kulit batang tanaman *E. fusca*.

Serbuk daun dan kulit batang tanaman diekstraksi dengan etanol 70 % menggunakan alat Soxhlet. Uji sitotoksitas terhadap sel HeLa menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun dan kulit batang *E. fusca* memiliki LC_{50} masing-masing sebesar 140 dan 110 $\mu\text{g/ml}$. Selanjutnya dilakukan uji doubling time untuk melihat kecenderungan mekanisme penghambatannya. Pengamatan terhadap sifat penghambatan dilakukan dengan membandingkan jumlah sel pada selang waktu tertentu antara kultur uji dalam seri dosis dengan kultur sel kontrol. Pada dosis 250 $\mu\text{g/ml}$ menunjukkan adanya penghambatan pertumbuhan dengan nilai *doubling time* untuk perlakuan dengan ekstrak daun dan kulit batang masing-masing adalah 52,7 jam dan 38 jam, sedang untuk kontrol DMSO adalah 32 jam. Pengecatan DNA dengan etidium bromida terlihat adanya fragmentasi yang merupakan ciri kematian dengan proses apoptosis.

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa ekstrak etanol kulit batang *E. fusca* memiliki aktivitas anti proliferasi terhadap sel HeLa dengan kemungkinan mekanisme menghambat *cell cycle*, dan memacu apoptosis.

Kata kunci: *Erythrina fusca*, Antiproliferative, Doubling time, Sel HeLa

Abstract

Erythrina fusca Lour (Indonesian: Cangkring) has been traditionally used to cure skin virus infection, cancer and inflammation. This experiment, therefore, was conducted to test its ability as anticancer through its antiproliferative effect using HeLa examine cell line as model.

The bark and leaves powder were extracted using ethanol (70 %) and were used in the experiment after freeze-drying. Those bark and leaves extracts have LC_{50} values of 110 and 140 $\mu\text{g/ml}$ respectively. Antiproliferative effect was tested by examining the doubling time effect of the extract against the proliferating cells. Three different concentration were used to treat the cells for each extract, and cells were counted within time

courses. The growth profiles were then compared between treated and control cells by calculating the doubling times. Either bark and leaves extract treated cells showed prolongation of the doubling times. This result indicated that such extract possess inhibitory effect or Antiproliferative effect against HeLa cells. Morphology analysis and nuclear staining of the cells indicated that one of the mechanism of the antiproliferative effect possibly through cell cycle modulation and apoptotic pathway.

Keywords: *Erythrina fusca, Antiproliferative, Doubling time, HeLa Cell.*

Pendahuluan

Kanker adalah suatu penyakit sel dengan ciri gangguan atau kegagalan mekanisme pengatur multiplikasi dan fungsi homeostasis lainnya pada organisme multiseluler. Sel kanker mempunyai ciri khusus pada fenotipnya, yang disebabkan karena adanya mutasi pada genotipnya, yaitu mampu mencukupi kebutuhan sinyal pertumbuhannya sendiri, tidak sensitif terhadap sinyal antiproliferatif, mampu menghindari dari proses apoptosis, memiliki potensi tak terbatas untuk replikasi, mampu menginduksi angiogenesis serta mampu menginvasi jaringan di sekitarnya dan membentuk metastasis (Hanahan and Weinberg, 2000).

Terapi pengobatan kanker yang utama seperti pembedahan dan radiasi hanya dapat dilakukan pada kanker lokal stadium awal. Pengobatan ini gagal digunakan untuk kanker yang telah berkembang pada stadium lanjut dan mengalami metatasis. Sementara itu pada pengobatan kanker dengan obat-obatan kemoterapi hanya efektif untuk beberapa periode waktu saja. Karena itulah, pilihan pengobatan baru yang aman, efektif dan selektif pada penyakit ini sangat penting.

Salah satu strategi untuk pengembangan obat kanker adalah dengan menemukan senyawa-senyawa yang mendasarkan target aksinya pada gen-gen pengatur pertumbuhan atau proliferasi sel (Gibbs, 2000). *Cell cycle progression* merupakan parameter utama dalam mengukur sifat proliferasi sel. Proses ini diatur oleh regulator positif (*onkogen*) dan regulator negatif (*minor suppressor gen*) (Dean, 1998).

Beberapa penelitian melaporkan bahwa bahan-bahan dari tanaman ternyata memiliki potensi sebagai regulator negatif onkogen dan regulator positif gen *tumor*

suppressor, sehingga berpotensi sebagai antikanker (Cardenas, *et al*, 1998). *Erythrina fusca* Lour (Cangkring) merupakan salah satu tanaman yang mempunyai potensi sebagai antitumor. Daun tanaman ini mengandung saponin, beta karoten dan polifenol, sedangkan bijinya mengandung senyawa-senyawa yang tergolong ke dalam alkaloid. Kulit batang tanaman genus *Erythrina* mengandung alkaloid yang hingga saat ini masih diteliti akivitasnya sebagai antikanker.

Penelitian beberapa tumbuhan yang termasuk dalam genus *Erythrina* menunjukkan aktivitasnya sebagai inhibitor *Cyclooxygenase*. Ekstrak air, etanol dan etil asetat dari kulit batang dan daun tanaman *Erythrina caffra*, *Erythrina humeana*, *Erythrina latissima* dan *Erythrina lysistemon* dilaporkan memiliki aktivitas yang tinggi sebagai inhibitor *Cyclooxygenase* (Pillay *et al.*, 2001). Aktivitas-aktivitas tersebut dapat memiliki makna positif sebagai antitumor karena perkembangan tumor seringkali juga melibatkan enzim *cyclooxygenase*, khususnya *Cyclooxygenase II* (COX II) (Dubois *et al.*, 1998). Ekstrak metanol daun *Erythrina fusca* Lour juga memiliki kemampuan untuk menghambat enzim *Topoisomerase II* (Sismindari *et al.*, 2001).

Berdasarkan kenyataan empiris dan data-data yang tersedia tersebut, maka dapat dikatakan bahwa tanaman *Erythrina fusca* Lour memiliki potensi untuk dikembangkan sebagai material antikanker. Penelitian ini bertujuan untuk meneliti aktivitas ekstrak etanol daun dan kulit batang tanaman *Erythrina fusca* Lour terhadap sel HeLa, yang merupakan jenis sel kanker leher rahim.

Bahan dan Metode Penelitian

Bahan penelitian

Sel HeLa (ATCC) diperoleh dari koleksi Laboratorium Ilmu Hayati Universitas Gadjah Mada (UGM). Bahan tanaman berupa daun dan kulit batang diperoleh dari tanaman yang tumbuh di Kulon Progo yang berumur kurang lebih 2 tahun, sudah berbunga dan berbuah. Tanaman tersebut selanjutnya diidentifikasi di bagian Biologi Farmasi Fakultas Farmasi UGM sebagai *Erythrina Fusca* Lour.

Preparasi ekstrak

Daun dan kulit batang tanaman *E. fusca* L. yang telah dikumpulkan dicuci dengan air, dikeringkan, diblender dan diayak. Serbuk diekstraksi dengan pelarut etanol 70% dalam labu Soxhlet. Ekstrak dipekatan dengan pemanasan pada *waterbath* dan dikeringkan dengan *freeze drying* pada suhu -40°C selama 24 jam.

Uji sitotoksitas dengan metode penghitungan langsung

Kultur dengan kepadatan 3×10^4 sel diinkubasikan dalam sumuran (menggunakan *plate* 96 sumuran) bersama suatu seri kadar ekstrak uji, DMSO 1,25% sebagai blanko dan RPMI 1640 saja sebagai kontrol. Pada akhir masa inkubasi, media disedot habis, dicuci dengan 100 μl PBS (Phosphat Buffer Saline), ditambah 100 μl Tripsin-EDTA, dibiarkan 3 menit, diresuspensi. Dari masing-masing sumuran diambil 10 μl kemudian dihitung dalam *haemocytometer* dengan metode penghitungan langsung (Hanif *et al.*, 1997). Persentase kematian dihitung dengan cara jumlah sel hidup kontrol dikurangi jumlah sel hidup perlakuan dibagi jumlah sel hidup kontrol dikalikan 100%. LC_{50} dihitung dengan analisis Probit.

Uji doubling time sel

Sel dipuasakan (starvasi) menumbuhkan dalam media kultur yang mengandung 0,5% FBS selama 24 jam (Meiyanto *et al.*, 2001). Selanjutnya sel ditumbuhkan di dalam sumuran dengan medium yang mengandung FBS (Fetal Bovine Serum) 10% yang ditambah ekstrak dengan seri kadar. Sampling dilakukan pada jam ke-6, 12, 24, 48 dan 72, jumlah sel dihitung dengan *haemocytometer*. Sel uji dibandingkan dengan kontrol. Perbedaan *doubling time* antara sel uji dan kontrol dianalisis dengan *student t test*.

Pengecatan DNA

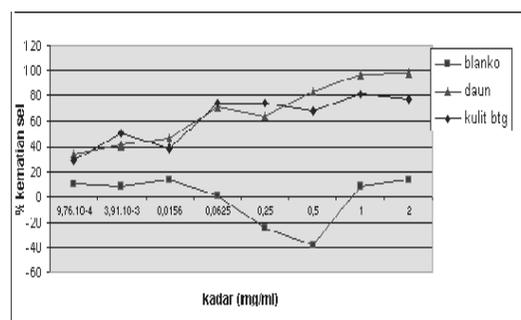
Pada akhir inkubasi (jam ke-24, 48, dan 72), medium diambil, sel difiksasi dengan metanol pada obyek glass kemudian ditambahkan RNA-ase

dan etidium bromida 0,1% kemudian ditutup dengan *deck glass*. Sel diamati setelah 30 menit di bawah mikroskop fluoresensi (Hanif *et al.*, 1997). Sel di analisis secara kualitatif dengan mengamati adanya perubahan morfologi.

Hasil dan pembahasan

Uji Sitotoksitas

Uji sitotoksitas dilakukan untuk memastikan bahwa ekstrak etanol daun dan kulit batang *E. fusca* L. benar-benar bersifat toksik terhadap sel HeLa dan mencari dosis untuk uji *doubling time*. Dari uji sitotoksitas dapat diperoleh dosis yang menyebabkan kematian sel sebesar 50% dari populasi sel atau LC_{50} . Hal ini perlu karena dalam uji *doubling time* dilakukan sampai jam ke-72 sehingga diperlukan dosis yang relatif tidak mematikan dan untuk memastikan bahwa apabila terjadi kematian sel adalah benar-benar karena ekstrak bersifat toksik terhadap sel, bukan karena dosis yang terlalu besar yang dapat mengganggu kesetimbangan media.



Gambar 1. Profil efek sitotoksik ekstrak etanol daun dan kulit batang *E. Fusca* L. terhadap sel HeLa.

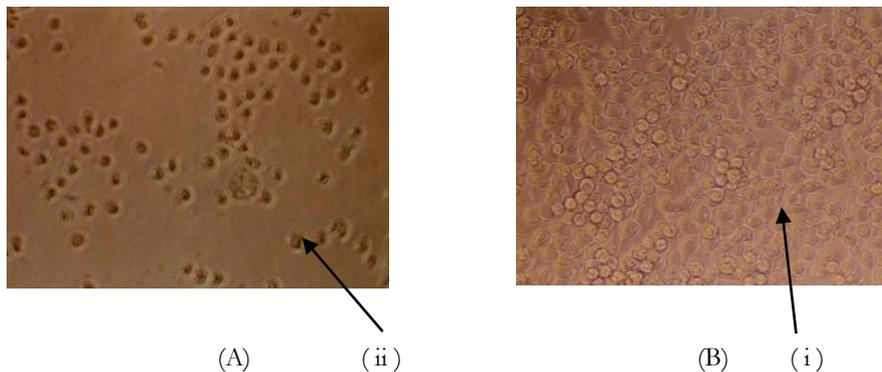
Gambar 1 memperlihatkan bahwa pada kadar ekstrak etanol daun maupun kulit batang *E. fusca* L. 2 mg/ml persentase kematian sel HeLa hampir mencapai 100% dan cenderung menurun bila kadar ekstrak etanol yang diinkubasikan bersama sel HeLa menurun. Hal ini berarti potensi ketoksikan ekstrak etanol daun dan kulit batang *E. fusca* L. adalah *dose dependent* (tergantung dosis). Persentase kematian sel yang diinkubasikan dengan DMSO relatif rendah yaitu di bawah 15%, berarti DMSO yang digunakan sebagai

pelarut ekstrak relatif tidak toksik terhadap sel HeLa dan memungkinkan penggunaan DMSO sebagai pelarut senyawa uji.

Selain persentase kematian sel, sebagai implementasi ketoksikan ekstrak etanol daun dan kulit batang *E. fusca* L. juga dapat dilihat dari morfologi sel HeLa. Pengamatan mikroskopis menunjukkan adanya perbedaan morfologi pada sel HeLa kontrol dan perlakuan (Gambar 2). Sel kontrol tampak berbentuk seperti daun, menempel di dasar sumuran, sedangkan sel dengan perlakuan kadar 2 mg/ml tampak banyak yang mati yang tampak berubah bentuknya, keruh dan mengapung.

mg/ml. Perlakuan untuk jam ke-48 dan 72 perlu ditambahkan media kultur pada jam ke-24 agar nutrisi yang dibutuhkan sel tetap tersedia.

Adapun hasil uji *doubling time* ini ditampilkan pada gambar 3 dan 4. Gambar 3 memperlihatkan pada jam ke-24 jumlah sel blanko dan kontrol mulai terjadi sedikit kenaikan dan meningkat sangat tajam menjadi hampir 4 kalinya pada jam ke-48. Begitu pula pada jam ke-72 jumlah sel meningkat pesat lebih dari 2 kali lipat. Pada sel dengan perlakuan senyawa uji tampak bahwa sampai akhir waktu percobaan tidak ada atau terjadi sedikit pertumbuhan. Hal ini dapat



Gambar 2. Morfologi sel HeLa dalam sumuran, perbesaran 150x. Sel dengan perlakuan ekstrak etanol daun cangkkring kadar 2 mg/ml (A), dan kontrol DMSO (B). Sel hidup, berbentuk seperti daun, menempel pada dasar sumuran (i), sel mati berbentuk bulat, keruh dan mengapung dalam media (ii).

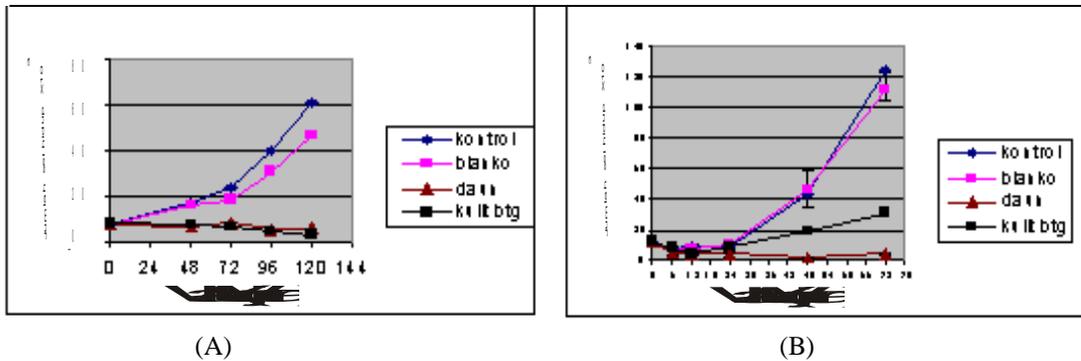
Data uji sitotoksitas selanjutnya digunakan untuk perhitungan LC_{50} dengan metode analisis Probit. Hasilnya memperlihatkan harga LC_{50} untuk ekstrak ethanol daun dan kulit batang terhadap sel HeLa berturut-turut sebesar 140 dan 110 $\mu\text{g/ml}$. Hasil uji sitotoksitas digunakan untuk menentukan dosis yang akan digunakan untuk uji *doubling time*, yaitu dipilih dosis di atas dan di bawah LC_{50} .

Uji Doubling time

Uji *doubling time* dilakukan untuk mengamati dengan jelas efek ekstrak etanol daun *E. fusca* L. terhadap sifat prolifertatif sel uji. Kadar ekstrak yang dipakai adalah 1,0 mg/ml, 0,5 mg/ml, 0,25 mg/ml, $1,56 \cdot 10^{-2}$ mg/ml, $3,91 \cdot 10^{-3}$ mg/ml dan $9,76 \cdot 10^{-4}$

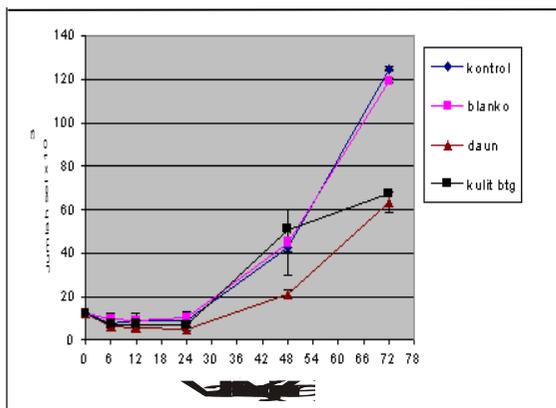
disebabkan karena sel mengalami kematian. Kematian ini dapat melalui mekanisme *arrest* (*cell cycle* berhenti, biasanya pada fase G_1/S) dulu baru mengalami apoptosis atau langsung mengalami apoptosis.

Hasil uji *doubling time* pada kadar 0,25 mg/ml ditampilkan pada gambar 4. Kurva blanko dan kontrol. Hampir berimpit dan masih menunjukkan pola yang sama seperti pada kadar 0,5 mg/ml. Namun pada sel dengan perlakuan senyawa uji terdapat pola yang berbeda di mana kurva relatif menurun sampai jam ke-24 namun pada jam ke-48 jumlah sel mulai meningkat 2 kali lipat dan terus bertambah pada jam ke-72 namun masih tetap di bawah jumlah sel kontrol dan blanko. Perbedaan jumlah sel antara kontrol dan perlakuan dengan senyawa uji pada setiap



Gambar 3. Profil pertumbuhan sel HeLa hasil uji *doubling time* ekstrak etanol daun dan kulit batang cangkring kadar 1,0 mg/ml (A) dan 0,5 mg/ml (B)

waktu dianalisis dengan uji t ($p= 0,05$). Dari hasil perhitungan uji t untuk kadar ekstrak 0,25 mg/ml ternyata pada jam ke-6 perbedaan jumlah sel antara kontrol dan perlakuan tidak signifikan, sedangkan pada jam-jam selanjutnya yaitu jam ke-12, 24, 48 dan 72 perbedaannya signifikan, berarti ekstrak etanol menghambat proliferasi sel. Pada gambar 4 dapat dilihat bahwa jumlah sel pada perlakuan dengan senyawa uji lebih rendah dari blanko dan kontrol, namun sampai akhir jam ke-72 jumlah sel masih terus meningkat. Hal ini menunjukkan bahwa pada uji *doubling time* dengan kadar 0,25 mg/ml ini *cell cycle* masih berjalan, hanya waktunya saja yang diperpanjang. Diduga yang terjadi adalah mekanisme *cell cycle delay* atau tertundanya *cell cycle*. Fenomena ini dapat terjadi karena adanya perubahan program *cell cycle* (efek modulasi *cell cycle*).



Gambar 4. Profil pertumbuhan sel HeLa, Hasil uji *doubling time* ekstrak etanol dan kulit batang Cangkring kadar 0,25 mg/ml

Data *doubling time* pada kadar 0,25 mg/ml tersebut selanjutnya juga dibuat persamaan regresi linier log jumlah sel sebagai fungsi waktu untuk melihat slope-nya yang merupakan parameter kinetika proliferasi sel (Field *et al.*, 1996), didapat harga slope untuk kontrol adalah 0,015, blanko mempunyai slope 0,015 dan slope sampel adalah 0,011. Semakin besar harga slope maka semakin singkat *doubling time*-nya. Harga slope sampel lebih kecil daripada blanko dan kontrol yang berarti *doubling time* sampel adalah yang paling panjang.

Dari persamaan regresi linier log jumlah sel vs waktu tersebut juga dapat dihitung waktu yang dibutuhkan sel untuk menjadi 2 kali jumlah semula (*doubling time*-nya). Harga *doubling time* kontrol dan blanko hampir sama (33,3 jam dan 32 jam), sedangkan harga *doubling time* sampel lebih tinggi (52,72 jam). Berarti adanya ekstrak etanol daun dan kulit batang cangkring dapat memperpanjang *doubling time* sel HeLa. Hal ini mak in menegaskan bahwa ekstrak etanol daun dan kulit batang *E. fusca* L. kadar 0,25 mg/ml menyebabkan sel HeLa mengalami penghambatan proliferasi yang kemungkinan disebabkan adanya perubahan program *cell cycle*.

Uji *doubling time* pada kadar $1,56 \cdot 10^{-2}$ mg/ml, $3,91 \cdot 10^{-3}$ mg/ml dan $9,76 \cdot 10^{-4}$ mg/ml senyawa uji sudah tidak lagi mampu memberikan efek penghambatan pada pertumbuhan sel (data tidak ditampilkan).

Pengecatan DNA

Pengecatan DNA dilakukan untuk memperoleh data kualitatif morfologi inti sel sebagai data pendukung uji *doubling time*. Pengecatan DNA dengan etidium bromida berdasarkan sifat etidium bromida yang dapat berinterkalasi dengan DNA maupun RNA. Hasil pengecatan ini dapat diamati di bawah mikroskop fluoresensi (Chow and Bogdan, 1997).

Hasil pengecatan DNA ditampilkan pada gambar 5. Pada perlakuan kadar 0,5 mg/ml dan 0,25 mg/ml, ekstrak daun dan kulit batang terlihat adanya DNA yang masih utuh, tampak sebagai spot jingga terang berbentuk bulat, dan ada yang telah terfragmentasi atau tidak utuh lagi. Hal ini berarti ada sel yang masih hidup dan ada juga yang mati. Adanya DNA yang terfragmentasi menunjukkan kematian sel adalah dengan mekanisme apoptosis.

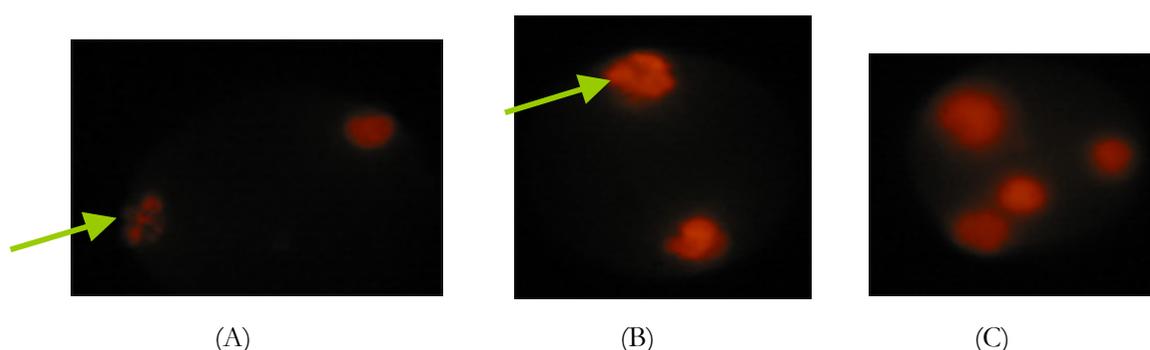
Secara keseluruhan hasil pengecatan DNA ini mendukung hasil uji *doubling time* yang telah dilakukan sebelumnya, utamanya terhadap sel HeLa. Pada sel kontrol HeLa tidak terjadi apoptosis, karena pada sel HeLa, regulator apoptosis yaitu p53 diikat dan didegradasi oleh protein E6 dari HPV (Desaintes *et al.*, 1999). Pada kadar 0,5 mg/ml tidak terjadi penambahan jumlah sel sampai akhir jam ke-72 yang mengindikasikan terjadinya mekanisme *cell cycle arrest* dan diduga ada kematian sel. Data pengecatan DNA

mendukung dugaan adanya kematian sel yaitu dengan kemungkinan melalui mekanisme apoptosis. Pada kadar 0,25 mg/ml terjadi perpanjangan waktu penggandaan (*doubling time*), dan data pengecatan DNA menunjukkan ada juga mekanisme apoptosis.

Senyawa alam yang terdeteksi di dalam senyawa uji yaitu flavonoid, alkaloid dan terpenoid (data tidak diperlihatkan), secara sinergis atau individual diduga mampu menghambat *cell cycle progression* dari sel HeLa. Hal ini didukung oleh banyak data tentang aktivitas antitumor dari senyawa-senyawa alam tersebut.

Flavonoid yang tersebar luas dalam daun (Harborne, 1987) telah disintesis bermacam-macam turunannya dan dievaluasi aktivitas antitumornya secara *in vitro* terhadap sel kanker payudara manusia MCF-7. *2'hidroxychalcones* dan *methoxylated flavonones* menunjukkan aktivitas antiprolifertif yang paling poten terhadap sel kanker payudara, MCF-7 (Chulia, 2001). Terpenoid tertentu mampu menghambat karsinogenesis. Kebanyakan diterpen dilakton aktif pada *human non-small cell lung tumor* (A-549) dan sel kanker kolon pada kultur sel (Cassady *at al.*, 1990).

Ada beberapa kemungkinan titik tangkap molekuler senyawa alam yang terkandung dalam ekstrak etanol daun cangkring, sehingga dapat berefek sebagai antikanker. Kemungkinan pertama, senyawa



Gambar 5. Penampakan morfologi DNA sel HeLa setelah dilakukan pengecatan dengan Etidium Bromida pada jam ke-48 dengan perbesaran 100x. Dilakukan dengan memfiksasi sel menggunakan metanol kemudian dicat. Sampel, sel dengan ekstrak etanol daun (A) dan kulit batang (B) *E. fusca* L. 0,25 mg/ml dan Kontrol sel diinkubasikan dengan media saja (C). Pada kontrol tampak adanya spot jingga terang yang menunjukkan DNA yang utuh sedang perlakuan ekstrak tampak adanya DNA yang utuh namun ada juga yang terfragmentasi yang mengindikasikan terjadinya apoptosis (tanda panah).

alam tersebut mampu menghambat signal transduksi. Signal transduksi dimulai dengan adanya rangsangan dari luar sel yang berupa faktor pertumbuhan yang ditangkap oleh reseptor. Reseptor akan menyampaikan signal proliferasi ke protein di sitoplasma (Weinberg, 1996). Aktivasi signal transduksi ini melalui suatu proses fosforilasi dengan melibatkan ATP dan protein yang terlibat umumnya adalah jenis protein kinase (Gibbs, 2000). Proses *signal transduction cascades* ini dapat dihambat oleh beberapa senyawa alam yang termasuk inhibitor fosfatase dan inhibitor kinase (Cardenas *et al.*, 1998). Senyawa uji mungkin mengandung suatu zat inhibitor kinase sehingga dapat menghambat *signal transduction cascades*. Misalnya karena adanya flavonoid yang dapat berkompetisi dengan ATP dalam proses fosforilasi sehingga proses fosforilasi terhambat.

Kemungkinan kedua, mempengaruhi program *cell cycle* yaitu dengan menghambat *cell cycle progression* dan menginduksi *cell cycle arrest*. Rangkaian signal transduksi berakhir di nukleus dan sel dari G_0 masuk ke G_1 phase. Signal transduksi menginisiasi faktor transkripsi yang akan mentranskripsi gen-gen yang dibutuhkan untuk jalannya *cell cycle* (Weinberg, 1996). Gen-gen tersebut antara lain *cyclins* dan *cyclin dependent kinase* (cdk). Untuk dapat memfasilitasi G_1 progression, kedua protein ini (*D-type cyclins* dan cdk 4 atau 6) harus membentuk kompleks untuk memfosforilasi pRb sehingga memacu *cell cycle progression*. Senyawa uji mungkin dapat menghambat fosforilasi pRb atau menginduksi *INK4 family proteins* yang merupakan protein penghambat CDK. Hambatan *cell cycle progression* ini juga dapat terjadi pada tiap tahap : *S phase*, G_2/M transition yang biasanya berupa *cell cycle arrest* (Shapiro and Harper, 1999).

Kemungkinan ketiga, dengan menjaga aktivitas protein p53 dan pRb. Pada sel HeLa sebenarnya p53 dan pRb ada dalam keadaan normal (tidak termutasi), hanya diikat kemudian didegradasi oleh protein E6 dan E7

dari HPV (Desaintes *et al.*, 1999). Senyawa uji mungkin mengandung zat yang dapat mencegah degradasi p53 sehingga terjadi apoptosis.

Kemungkinan keempat, dengan menghambat enzim telomerase. Telomer adalah penutup ujung kromosom yang terdiri dari puluhan ribu pasangan basa yang merupakan sekuen berulang. Enzim telomerase bekerja dengan terus memperpanjang telomer sehingga sel bersifat imortal dan aktivitasnya tidak ditemukan dalam sel normal somatik. Enzim ini diekspresi tinggi pada kira-kira 85-90% sel tumor manusia (Sasaki, 2001). Protein E6 dan E7 dari HPV yang menginfeksi sel HeLa dapat menginduksi protein *c-myc* yang dapat memacu enzim telomerase dan mengakibatkan sel bersifat imortal. Ekstrak etanol daun dan kulit batang cangkkring mungkin mengandung senyawa yang dapat menghambat aktivasi protein E6 dan E7 sehingga enzim telomerase terhambat dan sel dapat mati.

Seluruh kemungkinan mekanisme tersebut masih perlu diteliti kebenarannya, juga kemungkinan adanya mekanisme yang lain dan kiranya akan menjadi topik penelitian yang menarik di masa yang akan datang.

Kesimpulan

Ekstrak etanol daun dan kulit batang tanaman cangkkring (*Erythrina fusca* L.) mempunyai aktivitas sitotoksik secara *in vitro* terhadap sel HeLa, dengan LC_{50} masing-masing 140, 110 mg/ml. Ekstrak ini juga mempunyai efek antiproliferasi terhadap sel HeLa dengan kemungkinan mekanisme menghambat *cell cycle progression* (*cell cycle delay* dan *cell cycle arrest*) dan apoptosis.

Ucapan Terima kasih

Terima kasih disampaikan kepada QUE PROJECT Fakultas Farmasi UGM yang telah membiayai penelitian ini

Daftar Pustaka

- Cardenas, E.E., Sanfridson, A., Cutler, N.S., and Heitman, J., 1998, Signal-transduction cascades as Target for Therapeutic Intervention by Natural Products, *Tibtech*, **16**, 425-428.
- Cassady, J.M., Baird, W., and Chang, C.J., 1990, Natural Products as a Source of Potential Cancer Chemotherapeutic and Chemopreventive Agents, *Journal of Natural products*, **53** (1), 34.
- Chow, CS., and Bogdan, FM., 1997, A Structural Basis for RNA-Ligand Interactions, *Chemical Reviews*, 97 (%), 1486-153
- Chulia, C., 2001, Flavonoids: Structural Requirements for Antiproliferative Activity on Breast Cancer Cell Lines, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **11**, 3095-3097.
- Dean, M., 1998, Cancer as a Complex Developmental Disorder, *Cancer Res* **58**, 5633-5636.
- Desaintes, C., Goyat, S., Garbay, S., Yaniv, M., and Thierry, F., 1999, Papillomavirus E2 Induces p53-independent Apoptosis in HeLa Cells, *Oncogene* **18**, 4583-4545.
- Field, S.J., Tsai, F.Y., Kuo, F., Zubiaga, A.M., Kaelin, Jr, W.G., Livingston, D.M., Orkin, S.H., Greenberg, M.E., 1996, E2F Functions in Mice to Promote Apoptosis and Suppress Proliferation, *Cell*, **85**, 549-561.
- Gibbs, J.B., 2000, Mechanism-Based Target Identification and Drug Discovery in Cancer Research, *SCIENCE*, **287**, 1970.
- Hanahan, D., and Weinberg, R.A., 2000, The Hallmarks of Cancer, *Cell*, **100**, 57-70.
- Hanif, R., Qiao, L., Shiff, S.J., and Rigas, B., 1997, Curcumin, a Natural Plant Phenolic Food Additive, Inhibits Cell Proliferation and Induces Cell Cycle Changes in Colon Adenocarcinoma Cell Lines by a Prostaglandin- independent Pathway, *J. Lab. Clin. Med.*, 577,579.
- Harborne, 1987, *Metode Fitokimia*, diterjemahkan oleh Kosasih Padmawinata dan Iwang Soediro, Penerbit ITB, Bandung, 13.
- Meiyanto, E., Hoshijima, M., Ogawa, T., Ishida, N., and Takeya, T., 2001, Osteoclast Differentiation Factor Modulates Cell Cycle Machinery and Causes a Delay in S Phase Progression in RAW264 Cells, *Biochem Biophysic Res Comm* **282**, 278-283.
- Pillay, C.C.N., Jager, A.K., Mulholland, D.A., and Staden, J.V., 2001, Cyclooxygenase Inhibiting and Antibacterial Activities of South African Erythrina Species, *Journal of Ethnopharmacology*, **74** (3), 231-237.
- Sasaki, S., 2001, Development of Novel Telomerase Inhibitors Based on A Bisindole Unit, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **11**, 583-585.
- Shapiro, G.I., and Harper, J.W., 1999, Anticancer Drug Targets: Cell Cycle and Checkpoint Control, *J. Clin. Inves*, **104**(12), 1645-1653.
- Sismindari, Yuswanto, Ag., Susanti, L., Ngolady, D., 2001, Effects of Aqueous and Methanol Extract of *Erythrina fusca* Lour. on DNA topoisomerase II, *J. of Biotechnology*, inpress.
- Weinberg, R.A., 1996, How Cancer Arises, *Sci. Am.*, September, 62-69.