

Potensi Penghambatan Sel Kanker Paru dari Ekstrak *Davallia denticulata*

Rudi Hendra¹, Muhammad Afham¹, Rohimatul Khodijah¹

Artikel Penelitian

Abstract: An epiphytic fern known as *Davalia denticulata*, which is a member of the Davalliaceae family, grows on oil palm. It has been reported that several different species within this genus have been used as anticancer agents, antimicrobial agents, and antioxidants. However, there has been no report of any biological activity associated with this species. As a result, the purpose of this study was to extract secondary metabolites and assess the cytotoxicity of the extracts. The maceration method was used to extract this plant with a variety of solvents (methanol, ethyl acetate, and n-hexane), and the MTS assay was utilized to determine the cytotoxicity of this plant in relation to lung cancer (A549 cell line). According to the findings, the extracts exhibited a wide variety of activity toward the A549 cell line. The IC_{50} for the activity of the ethyl acetate extract was found to be 317.59 ppm, whereas the IC_{50} s for the water and n-hexane extracts were 575.41 and 806.06 ppm, respectively. These observations allow for a better understanding of the cytotoxicity of the species, which can then serve as a foundation for further research into the isolation and bioactivity of secondary metabolites.

Keywords: *Davalia denticulata*, extraction, cytotoxicity

¹ Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Riau, Pekanbaru 28283, Riau, Indonesia

Abstrak: Pakis epifit yang dikenal sebagai *Davalia denticulata*, yang merupakan anggota dari keluarga Davalliaceae, tumbuh di kelapa sawit. Telah dilaporkan bahwa beberapa spesies berbeda dalam genus ini telah digunakan sebagai agen antikanker, agen antimikroba, dan antioksidan. Namun, belum ada laporan tentang aktivitas biologis yang terkait dengan spesies ini. Oleh karena itu, tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengekstrak metabolit sekunder dan menguji sitotoksitas ekstrak tersebut. Metode maserasi digunakan untuk mengekstrak tanaman ini dengan berbagai pelarut (metanol, etil asetat, dan n-heksana), dan uji MTS digunakan untuk menentukan sitotoksitas tanaman ini dalam kaitannya dengan kanker paru-paru (cell line A549). Ekstrak menunjukkan berbagai aktivitas menghambat cell line A549. IC_{50} untuk aktivitas ekstrak etil asetat ditemukan sebesar 317,59 ppm, sedangkan IC_{50} untuk ekstrak air dan n-heksana masing-masing sebesar 575,41 dan 806,06 ppm. Pengamatan ini memungkinkan pemahaman yang lebih baik tentang sitotoksitas spesies, yang kemudian dapat berfungsi sebagai dasar untuk penelitian lebih lanjut tentang isolasi dan bioaktivitas metabolit sekunder.

Korespondensi:

Rudi Hendra
rudi.hendra@lecturer.unri.ac.id

Kata kunci: *Davallia denticulata*, ekstrak, sitotoksik

Pendahuluan

Davallia merupakan tumbuhan epifit yang tumbuh pada permukaan kulit kayu. Tumbuhan dengan jenis ini juga hidup di atas batu kapur dan jarang ditemukan di tanah. *Davallia* banyak dijumpai di daerah yang mempunyai ketinggian sekitar 300 hingga 2200 m di atas permukaan laut (1). *Davallia* hidup terestrial dan epifit, memiliki akar yang menyerupai akar serabut, batang semu (*rhizome*), tidak berduri, tidak memiliki daun steril, dan tipe daun majemuk. *Davallia* merupakan genus yang memiliki daya adaptasi yang tinggi sehingga mudah tumbuh dengan baik. Selain itu, juga memiliki rimpang yang tahan kering dan menjalar kemana-mana serta menyukai tempat terbuka sehingga mempunyai persebaran yang cukup luas. Contohnya *D. denticulata* dijumpai hidup epifit pada batang sawit (2).

Pada saat ini sudah banyak dilakukan penelitian mengenai bioaktivitas pada tumbuhan epifit salah satunya pada genus *Davallia*. Nugraha (2015) melaporkan bahwa *D. divaricata* Blume memiliki bioaktivitas sebagai antipsoriasis dan antioksidan, *D. solida* memiliki aktivitas antioksidan, antineurotoksisitas dan anti penuaan dini (3). *D. cylindrica* Ching telah diidentifikasi mengandung flavonoid sebanyak 16.44% dengan aktivitas antioksidan sebesar 0.258 mg/ml (hampir sama dengan rutin sebesar 0.25 mg/ml) (4). Chen *et al.* (2008), dalam penelitiannya menunjukkan bahwa akar *D. Solida* dilaporkan memiliki senyawa xanton, flavonoid, dan triterpenoid dengan aktivitas antioksidan IC₅₀ sebesar 15.93 ± 1.21 µg (5). Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan oleh Chai *et al.* (2015), *D. denticulata* memiliki kadar senyawa kimia yang tinggi. Diketahui *D. denticulata* memiliki kandungan total fenolik dan flavonoid 64 % dari beratnya. Tingginya kandungan senyawa metabolit sekunder pada *D. denticulata* menunjukkan bahwa tumbuhan ini memiliki potensi bioaktivitas yang tinggi (6). Cheng *et al.* (2012), melakukan isolasi pada *D. divaricata* dan diperoleh senyawa asam davallat yang dapat menghambat pertumbuhan sel kanker paru A549 cell lines (7).

Pada penelitian sebelumnya, *D. denticulata* memiliki sifat toksisitas dengan menggunakan metode *Brine Shrimp Lethality Test (BSLT)*

dengan nilai LC₅₀ 100-200 ppm (8). Berdasarkan laporan yang ada, jika hasil BSLT menunjukkan bahwa ekstrak tumbuhan bersifat toksik maka dapat dikembangkan ke penelitian lebih lanjut untuk pengujian sitotoksik tumbuhan sebagai usaha pengembangan obat alternatif antikanker (9). Oleh karena itu, dalam studi ini kami melaporkan ekstraksi dari beberapa pelarut organik dari spesies *D. denticulata*, dan juga aktivitas sitotoksik terhadap sel kanker paru A549. Kemotipe molekuler yang terdapat pada satu genus dengan spesies ini akan di bahas dalam kaitannya dengan sifat farmakologis pada penelitian ini.

Bahan dan Metode

Metode

Uji Fitokimia

Uji Fitokimia Uji fitokimia ekstrak kasar daun nilam dilakukan sebagai skrining awal untuk mengetahui senyawa metabolit sekunder yang terkandung di dalam daun nilam sesuai dengan literatur (10).

Ekstraksi

Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah tumbuhan paku kaki tupai (*D. denticulata*) yang diambil di batang pohon kelapa sawit yang terdapat di Halaman Fakultas Pertanian, Universitas Riau, Pekanbaru. Tumbuhan ini juga telah diidentifikasi oleh Kepala Laboratorium Botani Jurusan Biologi FMIPA Universitas Riau. *Aerial parts* dari tumbuhan paku kaki tupai yang masih segar dikeringanginkan di udara terbuka yang tidak langsung terkena matahari selama 2 minggu. Daun yang telah kering dihaluskan sampai menjadi serbuk.



Gambar 1. Tumbuhan paku kaki tupai (*Davallia denticulata*)

Sebanyak 10 kg *aerial parts* dari tumbuhan paku kaki tupai dikeringkan dengan cara dijemur tanpa sinar matahari. Setelah kering, sampel diblender hingga halus. Selanjutnya sampel ditimbang dan siap untuk dimaserasi dengan menggunakan pelarut *n*-heksana, etil asetat dan metanol. Serbuk sampel sebanyak 3 kg diekstraksi dengan cara maserasi menggunakan pelarut *n*-heksana, etil asetat dan metanol. Maserasi dilakukan selama 3x24 jam. Setiap 1x24 jam ekstrak disaring dan masing-masing filtrat ditampung. Sebelum disaring sampel diultrasonifikasi selama 1 jam. Kemudian filtrat tersebut dipekatkan dengan *rotary evaporator* pada suhu 40°C sehingga diperoleh ekstrak kasarnya. Ekstak kasar total *n*-heksana, etil asetat dan metanol ditimbang dengan timbangan analitik.

Sitotoksisitas

Cell line kanker paru (A549) merupakan koleksi kultur dari Departemen Farmakologi dan Farmasi Klinik Universitas Padjadjaran. Sel-sel ditanam dalam medium *Dulbecco's Modified Eagle's* (DMEM) (Gibco, Paisley, UK) yang mengandung 10% *Fetal Bovine Serum* (Gibco, Paisley, UK) dan 1% larutan *penicillin-streptomycin* (Gibco, Paisley, UK). Uji sitotoksisitas dilakukan pada 96-*well plates* dan biakan dipertahankan pada suhu 37 °C dalam atmosfer 5% CO₂. Sel dengan *confluency* 70-80% diremejukan dengan media baru bebas serum, selanjutnya diinkubasi selama 4 jam, dan kemudian diberi perlakuan dengan 7,8125; 15.625; 31,25; 62,5; 125; 250; 500; dan

1000 µg/mL ekstrak. Setelah 24 jam inkubasi, reagen *Cell Counting Kit-8* (Dojindo, Rockville-MD, USA) ditambahkan dan campuran diinkubasi selama 2 jam. Absorbansi suspensi sel diukur menggunakan spektrofotometer Tecan Infinite (Tecan, Grodig, Austria) pada 450 nm (11).

Hasil dan Diskusi

Uji fitokimia digunakan untuk mendeteksi senyawa metabolit pada tumbuhan berdasarkan golongannya sebagai informasi awal dalam mengetahui senyawa kimia dalam suatu tumbuhan. Hasil identifikasi kandungan kimia tumbuhan paku kaki tupai dapat dilihat pada **Tabel 1**.

Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah tumbuhan kaki tupai (*D. denticulata*) yang diambil di batang pohon kelapa sawit. Sampel dilakukan uji fitokimia terlebih dahulu untuk menentukan golongan senyawa metabolit yang terkandung didalamnya. Berdasarkan **Tabel 1** diperoleh bahwa tumbuhan *D. denticulata* memiliki senyawa metabolit sekunder golongan flavonoid, terpenoid/steroid, saponin dan fenolik. Hasil uji kualitatif flavonoid dan fenolik dilakukan dengan cara sampel direndam dengan alkohol dan dipanaskan perlahan-lahan hingga mendidih diatas penangas air. Alkohol digunakan karena sifatnya yang polar dapat mengikat senyawa flavonoid dan fenolik yang bersifat polar. Pada uji flavonoid ditambahkan logam Mg dan beberapa tetes HCl pekat.

Tabel 1. Hasil skrining uji fitokimia tumbuhan paku kaki tupai.

Uji Fitokimia	Hasil Positif Menurut Pustaka (Illing <i>et al.</i> , 2017)(15)	Hasil
Alkaloid	Terbentuk endapan jingga (Pereaksi Dragendroff)	-
	Terbentuk endapan putih (Pereaksi Mayer)	-
Flavonoid	Terbentuknya larutan kuning, jingga atau merah	+
Saponin	Terbentuk busa stabil ± 5 menit	+
Terpenoid/Steroid	Terbentuk larutan warna hijau atau ungu	+
Fenolik	Terbentuknya larutan hitam	+

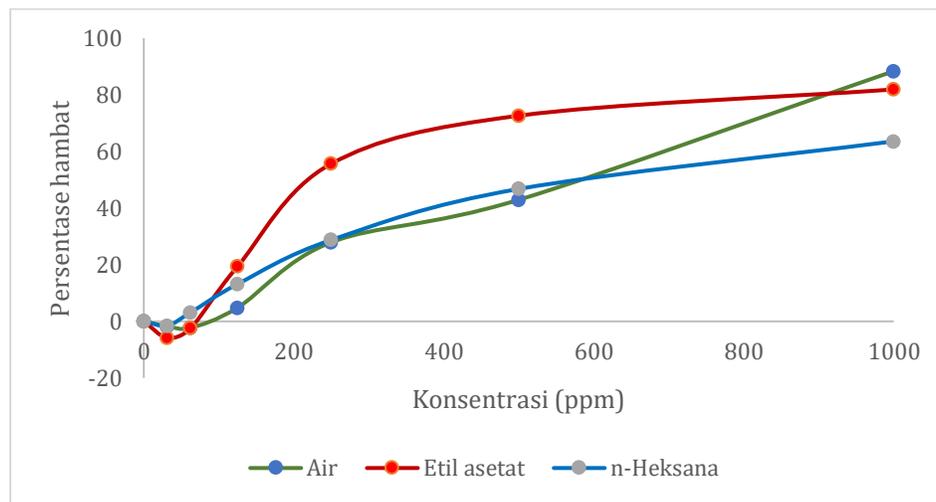
Hasil dijabarkan dengan tanda (+) menunjukkan adanya kandungan senyawa dan (-) tidak ada kandungan senyawa)

Flavonoid merupakan senyawa yang mengandung dua cincin aromatik dengan gugus hidroksil lebih dari satu. Penambahan Mg dan HCl pekat akan mereduksi flavonoid sehingga menghasilkan larutan yang berwarna kuning, jingga atau merah. Sedangkan penambahan beberapa tetes $FeCl_3$ bertujuan untuk mengidentifikasi fenolik. Senyawa fenol dengan gugus hidroksil akan bereaksi dengan $FeCl_3$ membentuk larutan berwarna hitam. Uji kualitatif saponin positif ditandai dengan terbentuknya busa yang dapat bertahan selama 5 menit. Busa yang ditimbulkan saponin karena adanya kombinasi struktur senyawa penyusunnya yaitu rantai sapogenin nonpolar dan rantai samping polar yang larut dengan air. Sehingga busa yang ditimbulkan dapat bertahan selama kurang lebih 5-10 menit (Khotimah, 2016). Identifikasi terpenoid/steroid pada tumbuhan kaki tupai memberikan hasil positif ketika ditambahkan pereaksi Lieberman-Buchard (asam asetat anhidrat dan asam sulfat pekat). Perubahan warna yang terjadi disebabkan karena proses oksidasi melalui pembentukan ikatan rangkap terkonjugasi. Hasil uji fitokimia untuk flavonoid dan fenolik *D. denticulata* telah dilaporkan sebelumnya dalam penelitian Chai *et al.*, (2015) serta hasil uji steroid/terpenoid sama dengan hasil yang telah dilaporkan pada genus *Davallia* (Cao *et al.*, 2014) (4) (6).

Sebelum ekstraksi metabolit sekunder, sangat penting untuk memperlakukan tanaman yang akan digunakan, karena hal ini berdampak pada

senyawa bioaktif yang diekstraksi. Oleh karena senyawa dalam sampel dapat terdegradasi dengan cepat oleh proses oksidatif, enzimatis, atau polimerisasi, sampel yang digunakan dalam penelitian ini dikering anginkan tanpa aanya pengaruh sinar matahari langsung untuk menentukan aktivitas yang dilakukan (12). Pemilihan pelarut ekstraksi yang tepat diperlukan untuk mengisolasi senyawa bioaktif yang diinginkan dari sampel tanaman. Menurut Tong *et al.* (2014), jenis bahan alami yang dapat diekstraksi dan aktivitas biologis dari ekstrak kasar dipengaruhi oleh pelarut organik yang digunakan. Dalam penelitian ini, spesies diekstraksi dengan pelarut organik polaritas yang berbeda (*n*-heksana, dan etil asetat) untuk memisahkan molekul yang memiliki sifat kepolaran yang berbeda (13).

Pada pengujian sitotoksitas dari beberapa ekstrak dari spesies ini dilakukan terhadap sel kanker paru (A549 *cell line*) dengan beberapa konsentrasi. Pada **Gambar 2**, menunjukkan bahwa daya hambat pertumbuhan sel kanker A549 tergantung pada konsentrasi ekstrak. Dari hasil di dapatkan bahwa ekstrak etil asetat dan air memiliki kemampuan penghambatan pertumbuhan yang kurang lebih sama, di mana etil asetat dapat menghambat 81,8 % sedangkan ekstrak air menghambat 88,3%. Sedangkan *n*-heksana memiliki kemampuan yang cukup rendah dibandingkan kedua ekstrak tersebut dengan penghambatan 63.6% pada konsentrasi 1000 ppm.



Gambar 2. Pertumbuhan Sel Kanker Paru (A549 *Cell line*) Terhadap Ekstrak *D. denticulata*

Aktivitas sitotoksik pada cell line A549 dilakukan menggunakan uji MTS. Penelitian telah menunjukkan bahwa uji MTS sitotoksitas secara in vitro adalah cara praktis untuk mengevaluasi viabilitas sel. Fitur utama dari tes ini adalah kemudahan penggunaan, presisi, dan hasil toksisitas yang cepat. Uji MTS juga dapat menjadi metode yang berharga dalam menilai risiko terhadap kesehatan manusia jika sensitivitas dan spesifisitas uji yang memadai ditunjukkan (14). Pada **Tabel 2** menunjukkan bahwa ekstrak etil asetat memiliki aktivitas yang paling tinggi di bandingkan ekstrak air dan *n*-heksana. Hasil ini sejalan dengan hasil pengujian toksisitas dengan menggunakan metode BSLT pada penelitian sebelumnya (8). BSLT mendeteksi aktivitas antikanker yang kuat tetapi terbatas dalam kemampuan prediktifnya untuk membedakan antara senyawa antikanker yang kuat hingga sedang dan buruk. Oleh karena itu, BSLT memberikan skrining awal yang cepat untuk sitotoksin yang kuat dan memungkinkan tingkat diskriminasi yang lebih baik pada kanker (9). Meskipun ekstrak etil asetat memiliki tingkat penghambatan yang tinggi, kemampuannya ini masih lebih rendah dibandingkan kontrol positif cisplatin.

Tabel 2. Sitotoksitas dari *Davallia denticulata* ekstrak

Sampel	IC ₅₀ (µg/mL)
Air	575,41
Etil Asetat	317,59
<i>n</i> -Heksana	806,06
Cisplatin	78,42

Pada penelitian yang dilaporkan oleh Cheng *et al* (2012) melaporkan bahwa senyawa asam davalik yang diisolasi dari *D. divaricata* dan aktivitas penghambat kanker paru (cell lina A549). Senyawa ini secara signifikan menginduksi spesies oksigen reaktif (ROS) serta aktivasi caspase-3, -8, dan -9, sehingga menekan pertumbuhan sel A549 dan meningkatkan aktivitas apoptosis (7). Oleh karena itu, kemungkinan aktivitas penghambatan sel A549 dari spesies *D. denticulata* dikarenakan keberadaan dari senyawa ini. Dimana berdasarkan Kemotipe molekuler antar spesies di

dalam suatu genus memiliki kemungkinan senyawa yang sama. Namun demikian, isolasi senyawa metabolit sekunder yang terdapat pada ekstrak etil asetat dan pengujian aktivitas sitotoksiknya sangat diperlukan untuk mendukung hasil penelitian ini.

Kesimpulan

Pada penelitian ini telah berhasil mengekstraksi senyawa metabolit dengan menggunakan beberapa pelarut organik. Ekstrak etil asetat memiliki tingkat penghambatan sel kanker paru. Oleh karena itu isolasi senyawa yang bertanggung jawab pada aktivitas tersebut perlu dilakukan lebih lanjut.

Referensi

- Noraini T, Ruzi A, Nadiah N, Nisa R, Maideen H, Solihani S. Ciri anatomi stip bagi beberapa spesies *Davallia* (Davalliaceae) di Malaysia. *Sains Malays*. 2012;41:53-62.
- Sofiyanti N, Iriani D. Davalliacea (Pteridophyta) di Bukit Batu Kabupaten Siak Provinsi Riau. *Repositoria Universitas Riau*. 2013:1-11.
- Nugraha AS. Natural product studies on tropical and polar plants (Thesis). Wollongong Australia: Wollongong; 2015.
- Cao J, Xia X, Dai X, Wang Q, Xiao J. Chemical composition and bioactivities of flavonoids-rich extract from *Davallia cylindrica* Ching. *Environ Toxicol Pharmacol*. 2014;37(2):571-9.
- Chen Y-H, Chang F-R, Lin Y-J, Hsieh P-W, Wu M-J, Wu Y-C. Identification of antioxidants from rhizome of *Davallia solida*. *Food Chem*. 2008;107(2):684-91.
- Chai T-T, Yeoh L-Y, Ismail NM, Ong H-C, Manan FA, Wong F-C. Evaluation of glucosidase inhibitory and cytotoxic potential of five selected edible and medicinal ferns. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*. 2015;14(3):449-54.
- Cheng A-S, Chang W-C, Cheng Y-H, Chen K-Y, Chen K-H, Chang T-L. The effects of Davallic acid from *Davallia divaricata* Blume on apoptosis induction in A549 lung cancer cells. *Molecules*. 2012;17(11):12938-49.

8. Hendra R, Khodijah R, Afham M, Fachira R, Sofiyanti N, Teruna HY. Tingkat toksisitas dari beberapa ekstrak tanaman paku kaki tupai (*Davalia denticulata*). *Majalah Farmasetika*. 2019;4:46-9.
9. Ghisalberti EL. Detection and Isolation of Bioactive Natural Products. In: Colegate SM, Molyneux RJ, editors. *Bioactive Natural Products: Detection, Isolation, and Structural Determination*. Second ed. Florida: CRC Press; 2008. p. 18.
10. Harborne JB. *Metode fitokimia: Penuntun cara modern menganalisis tumbuhan*. Bandung: Penerbit ITB. 1987;78.
11. Rachmawati H, Sundari S, Nabila N, Tandrasasmita OM, Amalia R, Siahaan TJ, et al. Orf239342 from the mushroom *Agaricus bisporus* is a mannose binding protein. *Biochem Biophys Res Commun*. 2019;515(1):99-103.
12. Yenn TW, Ring LC, Zahan KA, Rahman MSA, Tan W-N, Alaudin BJS. Chemical composition and antimicrobial efficacy of *Helminthostachys zeylanica* against foodborne *Bacillus cereus*. *Nat Prod Sci*. 2018;24(1):66-70.
13. Tong W, Zaadah JN, Tan W, Melati K, Latiffah Z, Darah I. Antimicrobial activity of *Phomopsis* sp. ED2 residing in medicinal plant *Orthosiphon stamineus* Benth. *Annu Res Rev Biol*. 2014:1490-501.
14. Malich G, Markovic B, Winder C. The sensitivity and specificity of the MTS tetrazolium assay for detecting the *in vitro* cytotoxicity of 20 chemicals using human cell lines. *Toxicology*. 1997;124(3):179-92.
15. Illing I, Safitri W, Erfiana E. Uji fitokimia ekstrak buah dengan. *Dinamika*. 2017;8(1):66-84.