

BAB IV

PEMBAHASAN

4.1 Pengaruh Ekstrak Pegagan (*Centella asiatica* L.) terhadap Konfluen Kultur Primer Sel Hepar *Baby hamster* yang dipapar 7.12-Dimetilbenz(α)antrasen

Penelitian ini menggunakan kultur primer sel hepar *baby hamster* yang berumur dua hari, karena mempunyai kemampuan proliferasi sel lebih tinggi dari pada hamster yang sudah dewasa. Jumlah sel yang ditanam dalam medium DMEM 10% FBS pada jam ke-0 ini sebanyak $1.04 \times 10^5 \text{ sel/mL}$.

Pengaruh Ekstrak Pegagan (*Centella asiatica* L.) terhadap Konfluen Kultur Primer Sel Hepar *Baby hamster* yang dipapar 7.12-Dimetilbenz(α)antrasen dapat diketahui hubungan antar perlakuan dengan analisis ANAVA Tunggal. Dengan menggunakan taraf signifikan 1%, jika terdapat perbedaan maka diuji lanjut dengan penentuan nilai koefisien keragaman (KK).

Hasil penelitian dan analisis ANAVA Tunggal tentang pengaruh pemberian ekstrak pegagan terhadap konfluen kultur sel primer hepar hamster yang dipapar 7.12-DMBA diperoleh F hitung $>$ F tabel 1% ($\alpha=0.01$). Dengan nilai signifikan 1% ($\alpha=0.01$) menunjukkan bahwa ada pengaruh yang sangat nyata pemberian ekstrak pegagan terhadap konfluen kultur primer sel hepar *baby hamster* yang dipapar 7.12-DMBA sebagaimana tercantum pada tabel 4.1.

Tabel 4.1 Ringkasan ANAVA Tunggal tentang pengaruh ekstrak pegagan terhadap konfluen sel Hepar yang dipapar 7.12-DMBA

SK	db	JK	KT	Fhitung	Ftabel 1%
Perlakuan	6	2666.667	444.444	41.481	4.460
Galat	14	150.000	10.714		
Total	20	2816.667			

Keterangan** : berbeda sangat nyata

Data signifikan yang diperoleh diukur dengan nilai koefisien keragaman (KK) yang menggambarkan tingkat ketepatan dengan perlakuan yang dibandingkan. Dari hasil perhitungan KK didapatkan nilai KK sama dengan 12.275% ($KK > 10\%$), sehingga untuk membandingkan perbedaan antar perlakuan dengan menggunakan uji lanjut UJD 1%. Hasil notasi uji UJD 1% dari rata-rata persentase subkonfluen kultur primer sel hepar *baby hamster* setelah pemberian ekstrak pegagan sebagaimana tercantum dalam tabel 4.2.

Tabel 4.2 Ringkasan uji UJD 1% tentang pengaruh ekstrak pegagan terhadap konfluen sel Hepar yang dipapar 7.12-DMBA

Perlakuan	Rata-rata Konfluen	Notasi UJD 1%
P5	8.333	a
P4	13.333	a
P3	25.000	b
P1	33.333	b
P2	31.667	b
K(-)	31.667	b
K(+)	43.333	c

Angka yang didampingi oleh adanya huruf yang sama tidak berbeda sangat nyata pada taraf signifikan 1% ($\alpha=0.01$)

Pada perlakuan P5 dan P4 tidak berbeda sangat nyata terhadap konfluen kultur sel primer sel hepar *baby hamster* yang dipapar 7.12-DMBA , namun

berbeda sangat nyata dengan perlakuan P3, P1, K(-), P2, P2 dan K(+). Pada perlakuan P3 tidak berbeda sangat nyata dengan perlakuan P1, P2, P dan K(-), namun berbeda sangat nyata dengan perlakuan P5,P4, dan K(+). Sedangkan perlakuan K(+) berbeda sangat nyata dengan perlakuan P5, P4, P3, P1, P2 dan K(-).

Konfluen kultur sel hepar *baby hamster* ini ditandai dengan adanya perlekatan sel dengan permukaan substrat dan perlekatan sel dengan sel lain membentuk agregat. Menurut Laws (2009) perlekatan sel dengan permukaan substrat membentuk *attachment site* dipengaruhi oleh adanya interaksi molekuler dan adhesi sel. Interaksi molekuler dan adhesi sel melibatkan bentuk interaksi sel dengan sel, sel dengan *extracellular matrix* (ECM), sel dengan faktor pertumbuhan, *extracellular matrix* (ECM) dengan *extracellular matrix* (ECM), dan *extracellular matrix* (ECM) dengan faktor pertumbuhan.

Pertumbuhan sel bergantung pada dua jenis sinyal ekstrasel yang berasal dari mediator terlarut dan matriks ECM. Sinyal pertama berasal dari molekul terlarut, seperti faktor pertumbuhan dan penghambat (inhibitor) pertumbuhan polipeptida. Sedangkan sinyal yang kedua melibatkan unsur tidak terlarut pada ECM yang berinteraksi dengan integrin sel. Integrin merupakan kelompok glikoprotein heterodimer transmembran sel yang berikatan dengan ECM melalui tripeptida arginin-glisin-asam aspartat (disingkat RGD yang terdapat pada fibronectin) (Hansen *et al*, 1990).

Interaksi ini memberikan sinyal perlekatan sel dan dapat mempengaruhi pergerakan dan proliferasi sel. Dengan demikian interaksi integrin dengan ECM

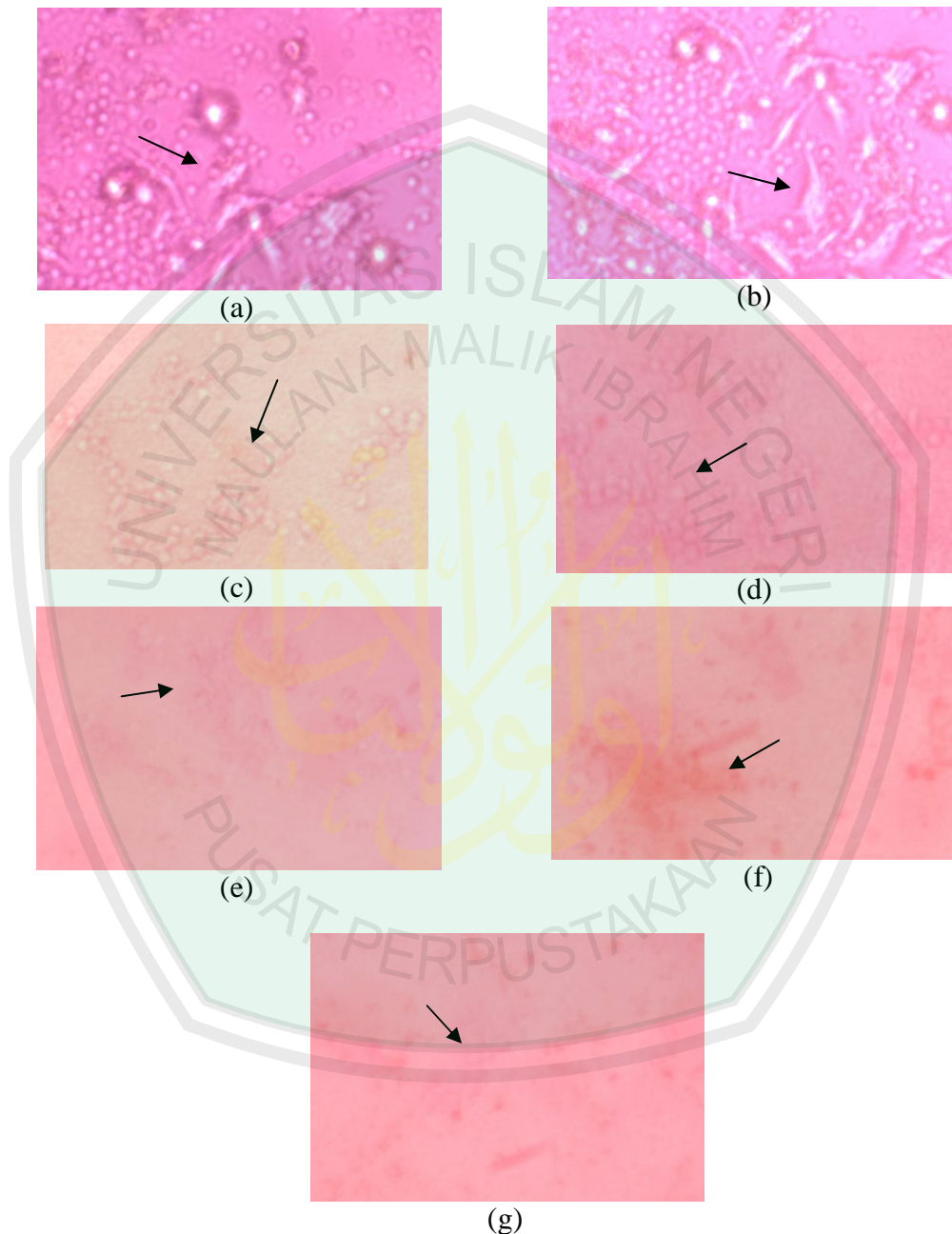
digunakan faktor pertumbuhan untuk berikatan dengan reseptornya dan mengaktifkan kaskade atau sinyal transduksi. Kaskade kinase yang dihasilkan menyebabkan aktivasi faktor transkripsi inti, menginisiasi sintesis DNA hingga pembelahan sel (Kumar *et al.*, 2007).

Metabolisme obat di hepar terjadi pada membran retikulum endoplasma sel yang melibatkan dua fase reaksi. Reaksi fase I meliputi biotransformasi obat menjadi yang lebih polar melalui pemasukan atau pembukaan gugus fungsional (misalnya -OH) melalui oksidasi yang dikatalis oleh suatu enzim oksidasi yang disebut sitokrom P-450 (CYP) (Neal, 2006).

Reaksi fase I kemungkinan tidak menghasilkan senyawa yang cukup hidrofil, tetapi secara umum dapat menghasilkan suatu gugus fungsional yang mudah terkonjugasi atau mengalami reaksi fase II. Reaksi fase II atau reaksi konjugasi bertujuan untuk mengikat gugus fungsional hasil metabolit reaksi fase I dengan senyawa endogen yang mudah terionisasi dan bersifat polar, seperti Glutation (GSH). Konjugasi Glutation memegang peranan penting pada proses detoksifikasi senyawa elektrofil reaktif (metabolit reaktif yang bersifat toksik) yang menimbulkan karsinogenik, sehingga konjugasi yang terbentuk kehilangan aktivitas dan toksisitasnya (Siswandono dan Soekardjo, 2008).

Pemberian 7.12-DMBA dengan konsentrasi 0.1 $\mu\text{g/mL}$ selama 48 jam terhadap kultur primer sel hepar secara morfologi tidak dapat dibedakan dengan sel hepar yang tidak diberi 7.12-DMBA. Namun sel yang diberi 7.12-DMBA mengalami pertumbuhan abnormal. Perbedaan sangat nyata ($\alpha=0.01$) terlihat dari perbandingan K(-) dengan K(+), pertumbuhan kultur primer sel hepar yang diberi

perlakuan 7.12-DMBA lebih tinggi dari pada pertumbuhan kultur primer sel hepar tanpa 7.12-DMBA sebagaimana terlihat pada gambar 4.2.



Gambar 4.1 Konfluen kultur primer sel hepar *baby hamster* pasca perlakuan ekstrak yang ditandai dengan tanda panah (perbesaran 100x), (a) K(-) kontrol negative, (b) K(+) kontrol positif (dengan perlakuan 7.12-DMBA), (c) P1 perlakuan 7.12-DMBA dan ekstrak 250 $\mu\text{g/mL}$ selama 24 jam, (d) P2 perlakuan 7.12-DMBA dan ekstrak 500 $\mu\text{g/mL}$ selama 24 jam, (e) P3 perlakuan 7.12-DMBA dan ekstrak 1000 $\mu\text{g/mL}$ selama 24 jam, (f) P4 perlakuan 7.12-DMBA dan ekstrak 2000 $\mu\text{g/mL}$ selama 24 jam, (g) P5 perlakuan 7.12-DMBA dan ekstrak 4000 $\mu\text{g/mL}$ selama 24 jam

Menurut Sudiana (2008) adanya perubahan perilaku sel yang abnormal, yaitu mempunyai kemampuan proliferasi yang tinggi, disebabkan sel mengekspresikan berbagai protein yang abnormal merupakan perilaku transformasi sel (pembentukan sel kanker). Terekspresinya berbagai protein abnormal, karena sel mengalami mutasi (kecacatan gen) yang diinduksi oleh suatu mutagen.

Penelitian Digiovanni *et al.* (1984) 7.12-DMBA yang dipapar pada kultur embrio hamster sebagian metabolit terlarut air (hidrofilik). Dari analisis HPLC yang mengidentifikasi metabolisme DMBA terlarut dengan penanda bentukan *DNA adduct*, pemberian DMBA dengan konsentrasi 0.1 $\mu\text{g/mL}$ selama 48 jam menghasilkan metabolisme reaktif DMBA-3.4-diol sebesar 24% dari metabolit yang terlarut dalam hasil ekstraksi sel, sehingga menginduksi mutasi kultur sel embrio hamster.

Metabolit reaktif DMBA dapat berkonjugasi dengan GSh oleh GST. Walaupun enzim fase I dan fase II mendetoksifikasi DMBA, namun beberapa *diol epoxide* lolos dari detoksifikasi yang mampu berikatan dengan residu adenin DNA yang menyebabkan mutasi onkogen pada sel normal menjadi transformasi sel (Nagini, 2009).

Metabolit aktif DMBA-3,4-*diol-1,2 epoxides* mampu berikatan kovalen dengan DNA membentuk *bulky DNA adduct* (penanda terjadinya metilasi pada pasangan basa yang terpapar oleh senyawa aromatik) pada sisi 8-hidroksi-2'-Deoksiguanosin (8-OH-dG). Interaksi *DNA adduct* mampu menginduksi produk

mutasi gen supresor p53 (Weimer *et al.*, 2000) dan mutasi adenin menjadi timin pada *codon* 61 gen ras (Ewing, 2007).

Ras merupakan protein transduksi sinyal yang menghubungkan reseptor faktor pertumbuhan ke inti sel. Pada keadaan inaktif, protein ras berikatan dengan guanosin difosfat (GDP), saat sel mendapat rangsangan faktor pertumbuhan, ras inaktif menjadi aktif dengan menambahkan gugus fosfat GDP menjadi GTP. Ras aktif kemudian mengaktifkan berbagai regulator proliferasi. Pada keadaan tereksitasi penyalur sinyal pada protein ras normal berlangsung karena aktivitas guanine trifosfatase (GTPase) menghidrolisis GTP menjadi GDP (Kumar *et al.*, 2007).

Asam amino yang dikode oleh kodon 61 adalah bagian yang esensial untuk hidrolisis hidrolisis GTP. Mutasi dilokasi ini mengganggu hidrolisis GTP yang penting untuk mengubah ras aktif menjadi inaktif. Proses ras mutan mengalami aktivasi terus menerus karena tidak mampu menghidrolisis GTP sehingga sel terus menerus terangsang tanpa adanya pemicu eksternal(Kumar *et al.*, 2007).

Hasil uji fitokimia ekstrak pegagan secara kualitatif positif mengandung triterpen saponin. Untuk mengetahui adanya senyawa triterpen tersebut menggunakan uji warna Liebermann-Buchard (LB) hasil positif terlihat timbulnya warna coklat pada perbatasan dua pelarut, sedangkan adanya saponin dilakukan dengan menggunakan metode Forth hasil positif terlihat adanya busa selama \pm 30 menit.

Saponin terdiri dari Sapogenin yaitu bagian yang bebas dari Glikosida yang disebut juga *aglycone*. Saponin bersifat amfifilik (*amphiphilic* atau *surfactant properties*). Dengan demikian Saponin dapat membentuk busa dan merusak membran sel karena bisa membentuk ikatan dengan lipida dari membran sel.

Pengaruh pemberian ekstrak pegagan pada kultur primer hepar *baby hamster* yang dipapar 7.12-DMBA mampu menekan konfluen sel. Hal ini terlihat pada perbandingan K(+) berbeda sangat nyata dengan perlakuan P5, P4, P3, P1, dan P2 yaitu adanya kerusakan perlekatan sel dengan permukaan substrat dan kerusakan sel, sehingga konfluen sel menurun seperti yang terlihat pada gambar 4.2. Diduga triterpen saponin yang terkandung dalam ekstrak pegagan berikatan dengan sebagian molekul yang bersifat nonpolar pada membran sel yaitu kolesterol dan fosfolipid, menghentikan siklus sel dan menginduksi kematian sel (apoptosis).

Menurut Wahed (2009) saponin mengurangi terjadinya *reactive oxygen species* seperti H_2O_2 dengan meningkatkan kerusakan *peroxiredoxins*, *katalase*, dan *glutathione peroksidase* serta menekan produksi dengan menghambat jalur signaling *phosphatidylinositol-3-kinase* yang mencegah kerusakan kromosom. Kerusakan tersebut disebabkan oleh afinitas aglikon saponin pada membran sterol, terutama kolesterol. Sel kanker memiliki struktur membran dengan lebih banyak senyawa kolesterol.

Triterpen saponin mengakibatkan sitotoksik terhadap sel kanker melalui *epidermal growth factor receptor* (EGFR) dan aktivasi apoptosis melalui jalur

caspase oleh aktivasi caspase-3 dengan menekan induksi protein anti-apoptosis bcl-2 dan bcl-x. Selain itu, adanya interaksi saponin dengan kolesterol yang menyebabkan penataan ulang bilayer lipid dan ssekuen membran sel mengalami gangguan (Weng *et a.*, 2012; Haridas *et al.*, 2000).

4.2 Pengaruh Ekstrak Pegagan (*Centella asiatica* L.) terhadap Viabilitas Kultur Primer Sel Hepar *Baby hamster* yang dipapar 7.12-Dimetilbenz(α)antrasen

Berdasarkan analisis ANAVA Tunggal tentang pengaruh ekstrak pegagan terhadap persentase viabilitas kultur sel hepar *baby hamster* yang dipapar 7.12-DMBA diperoleh F hitung > F tabel 1%. Dengan taraf signifikan 1% ($\alpha = 0.01$) menunjukkan adanya pengaruh sangat nyata pengaruh pemberian ekstrak pegagan terhadap persentase kematian kultur primer sel hepar yang dipapar 7.12-DMBA sebagaimana tercantum pada tabel 4.3 berikut:

Tabel 4.3 Ringkasan tabel ANOVA Tunggal tentang Pengaruh Ekstrak Pegagan terhadap viabilitas Sel Hepar yang dipapar 7.12-DMBA

SK	db	JK	KT	F hitung	F 1%
Perlakuan	6	13931.834	2321.972	152.981	4.460
Galat	14	212.495	15.178		
Total	20	14144.329			

Keterangan***: berbeda sangat nyata

Dari hasil pengukuran nilai keragaman koefisien keragaman KK sama dengan 6.506% ($KK < 10\%$), sehingga untuk membandingkan perbedaan antar perlakuan dengan menggunakan uji lanjut BNT 1%. Hasil notasi uji lanjut BNT

15 dari rata-rata persentase viabilitas kultur primer sel hepar *baby hamster* setelah pemberian ekstrak pegagan sebagaimana tercantum pada tabel 4.4.

Tabel 4.4 Ringkasan uji lanjut BNT 1% tentang pengaruh ekstrak pegagan terhadap viabilitas sel Hepar yang dipapar 7.12-DMBA

Perlakuan	Rata-rata Viabilitas	Notasi BNT 1%
P5	19.104	a
P4	32.169	b
P3	49.613	c
P2	63.521	d
P1	72.994	e
K(+)	90.383	f
K(-)	91.382	f

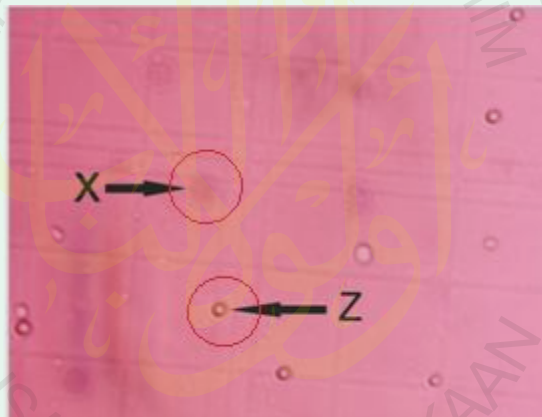
Angka yang didampingi oleh adanya huruf yang sama tidak berbeda nyata pada taraf signifikan 1% ($\alpha=0.01$)

Dari tabel 4.5 diperoleh perbandingan antar perlakuan menunjukkan bahwa perlakuan P5 berbeda sangat nyata dengan perlakuan P1, P2, P3, P4, K(+) dan K(-). Selanjutnya, P4 berbeda sangat nyata dengan perlakuan P1, P2, P3, P5, K(+) dan K(-). Sementara perlakuan P3 berbeda sangat nyata dengan perlakuan P1, P2, P4, P5, K(+) dan K(-). Perlakuan P2 berbeda sangat nyata dengan perlakuan P1, P3, P4, P5, K(+) dan K(-). Perlakuan P1 berbeda sangat nyata dengan perlakuan P2, P3, P4, P5, K(+) dan K(-). Sedangkan perlakuan K(+) dan K(-) tidak berbeda sangat nyata, namun berbeda sangat nyata dengan perlakuan P1, P2, P3, P4, dan P5.

Pengaruh ekstrak pegagan terhadap viabilitas kultur sel primer hepar *baby hamster* yang dipapar 7.12-dimetilbenz(α)antrasen diamati secara visual dengan pewarnaan *trypan blue*. *Trypan blue* adalah zat warna yang hanya bisa menembus membran sel yang mati. Metode ini digunakan untuk membedakan antara sel

yang mati dan sel hidup disebabkan perlakuan ekstrak. Sel yang hidup (*viabel*) tidak terwarnai akan tampak membulat. Sedangkan sel yang mati (*non viabel*) akan terwarnai biru tua dan ukurannya lebih besar daripada sel hidup. Hasil pewarnaan viabilitas sel hepar yang mati dan yang hidup dapat dilihat pada gambar 4.3.

Sel yang mati menunjukkan pengaruh sitotoksitas ekstrak pegagan terhadap kultur sel primer hepar yang dipapar 7.12-DMBA, dikarenakan ekstrak pegagan mengandung triterpen saponin yang target utamanya yaitu jalur kematian sel (apoptosis) dan kerusakan membran sebagaimana ditunjukkan pada gambar 4.3.



Gambar 4.2 Pewarnaan viabilitas sel hepar dengan *trypan blue* (Perbesaran 400x), tanda panah X menunjukkan sel mati, dan tanda panah Z menunjukkan sel hidup

Perlakuan K(+) dan K(-) berbeda sangat nyata dengan perlakuan P1, P2, P3, P4, dan P5, diduga pengaruh ekstrak pegagan terhadap kultur primer sel hepar hamster yang dipapar 7.12-DMBA mampu menurunkan viabilitas sel. Haridas *et al.* (2006) menyatakan bahwa perlakuan triterpen saponin tidak hanya membuat kerusakan membran plasma tetapi juga membran permeabel intraselular terhadap protein. Hal ini disebabkan interaksi saponin mampu berikatan dengan kolesterol

pada membran sel, sehingga mengganggu permeabilitas membran sel. Selain itu, menekan protein antiapoptosis bcl-2 dan bcl-x, serta aktivasi caspase.

4.2 Pengaruh Ekstrak Pegagan (*Centella asiatica* L.) terhadap Sitotoksitas Kultur Primer Hepar *Baby hamster* yang dipapar 7.12-Dimetilbenz(α)antrasen

Sitotoksitas ekstrak pegagan terhadap kultur primer hepar *baby hamster* yang dipapar 7.12-DMBA ini menggunakan seri konsentrasi yaitu 250 $\mu\text{g/mL}$; 500 $\mu\text{g/mL}$; 1000 $\mu\text{g/mL}$; 2000 $\mu\text{g/mL}$; dan 4000 $\mu\text{g/mL}$. Uji sitotoksitas dengan penghitungan secara langsung (*viable cell count*) dengan rumus yang dipakai oleh Doyle dan Griffith.

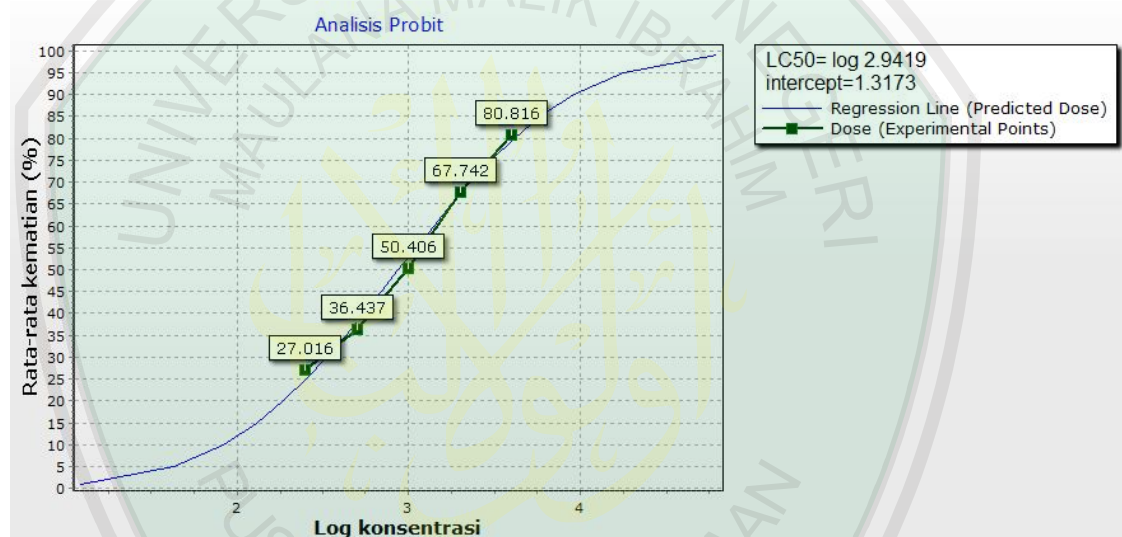
Tabel 4.5 Hasil uji sitotoksitas ekstrak pegagan terhadap kulture primer sel hepar *baby hamster* yang dipapar 7.12-DMBA

Perlakuan	Konsentrasi ($\mu\text{g/mL}$)	Log Konsentrasi	Rataan kematian
K(-)	0	-	8.618 \pm 1.491
K(+)	0	-	9.617 \pm 6.438
P1	250	2.398	27.016 \pm 2.289
P2	500	2.699	36.437 \pm 2.020
P3	1000	3.000	50.406 \pm 2.455
P4	2000	3.301	67.742 \pm 4.649
P5	4000	3.602	80.816 \pm 5.061

Dari hasil perhitungan diperoleh kematian sel tertinggi dengan persentase 80.816 \pm 5.061% pada pemberian konsentrasi ekstrak sebesar 4000 $\mu\text{g/mL}$, sedangkan kematian sel terendah dengan persentase 27.016 \pm 2.289% pada pemberian konsentrasi ekstrak sebesar 250 $\mu\text{g/mL}$ sebagaimana tercantum pada

tabel 4.1. Nilai sitotoksitas ekstrak pegagan diperoleh melalui pengolahan data komputerisasi analisis probit dengan taraf signifikan 5% ($\alpha=0.05$).

Hasil analisis data komputerisasi analisis probit sebagaimana tercantum pada tabel 4.3 menunjukkan bahwa pemberian ekstrak pegagan selama 24 jam (masa inkubasi 48 jam hingga 72 jam) dapat mengakibatkan kematian 50% kultur primer hepar *baby hamster* yang dipapar 7.12-DMBA dari populasi. Nilai LC50 diperoleh dari kurva hubungan persentase kematian sel dengan log konsentrasi.



Gambar 4.3 Kurva probabilitas analisis probit tentang hubungan log konsentrasi dengan persentase kematian sel melalui komputerisasi BioStat 2009 Professional 5.8.4

Berdasarkan kurva probabilitas analisis probit diperoleh nilai LC sebesar log konsentrasi 2.9419 seperti pada gambar 4.3. Sehingga antilog konsentrasi 2.942 didapatkan hasil konsentrasi sebesar 874.723 $\mu\text{g/mL}$. Nilai probabilitas LC50 tersebut menunjukkan pengaruh sitotoksitas pemberian ekstrak pegagan mengakibatkan kematian 50% populasi kultur primer hepar *baby hamster* yang dipapar 7.12-DMBA dengan konsentrasi 874.723 $\mu\text{g/mL}$ (95% *Confidence*

Interval = 732.540 - 1037.164). Dengan demikian, peningkatan konsentrasi (log konsentrasi) ekstrak pegagan mempengaruhi peningkatan persentase kematian kultur primer hepar yang dipapar 7.12-DMBA (dengan parameter LC50) secara bermakna ($p=0.00$).

Suatu zat dikatakan aktif atau toksik bila memiliki nilai LC50 < 1000 $\mu\text{g/mL}$ untuk ekstrak dan $\leq 30 \mu\text{g/mL}$ suatu senyawa. Apabila LC50 kurang dari 1000 ppm, dikatakan mempunyai potensi sebagai antikanker (Meyer *et al.*, 1982). Berdasarkan analisis probit ekstrak pegagan memiliki sitotoksik terhadap kultur primer sel hepar dengan nilai LC50 sebesar 874.723 $\mu\text{g/mL}$. Sehingga, ekstrak pegagan tersebut bersifat toksik dan berpotensi sebagai antikanker.

Pegagan mengandung senyawa aktif berupa triterpen saponin. Saponin terdiri dari Sapogenin yaitu bagian yang bebas dari Glikosida yang disebut juga *Aglycone*. Sapogenin yang bersifat lipofilik serta sakarida yang hidrofilik maka Saponin bersifat amfifilik (*amphiphilic* atau *surfactant properties*).

Sifat kelarutan pada umumnya berhubungan dengan aktivitas biologis dari senyawa. Sifat kelarutan juga berhubungan erat dengan proses absorpsi obat. Overton (1901) mengemukakan konsep bahwa kelarutan senyawa organik dalam lemak berhubungan dengan mudah tidaknya penembusan membran sel. Senyawa nonpolar bersifat mudah larut dalam lemak (Siswandono dan Soekardjo, 2008).

Penelitian Pitella *et al.* (2009) aktivitas sitotoksik IC50 (*Inhibiting Concentration 50*) ekstrak air (*aqueous extract*) *Centella asiatica* bekerja pada konsentrasi 10-1000 $\mu\text{g/mL}$ terhadap kultur *cell line*. Namun terhadap sel normal fibroblast ginjal (BHK-21), tidak memberikan efek toksik. Ekstrak air pegagan

yang mengandung asiaticoside dapat mengurangi radikal bebas atau sebagai antioksidan, namun pada konsentrasi yang tinggi menyebabkan efek sitotoksik.

Hsu *et al.* (2005) mengemukakan bahwa pada kisaran 12 jam setelah perlakuan pemberian *Asiatic acid* derivat senyawa aktif pegagan terhadap kanker *cell line* payudara (MCF-7 dan MDA-MB-231) dapat menghambat perkembangan siklus sel. Sedangkan efek *Asiatic acid* menginduksi apoptosis kanker *cell line* payudara pada kisaran selama 24 jam setelah pemberian ekstrak, melalui uji ELISA yang mendeteksi fragmen-fragmen DNA oligonukleosum.

Dengan demikian, diduga triterpen saponin yang terkandung dalam perlakuan ekstrak pegagan selama 24 jam berikatan dengan sebagian besar molekul yang bersifat nonpolar pada membran plasma maupun membran permeabel intraselular, dan hanya sebagian kecil berikatan dengan molekul yang bersifat polar sehingga menyebabkan apoptosis kultur primer hepar. Hal ini disebabkan senyawa triterpen saponin bersifat amfifilik. Menurut Yadav *et al* (2010) dan Tang *et al.* (2009) triterpenoid memiliki satu target yang umum, antiapoptotik protein Bcl-2, yang dapat menimbulkan apoptosis dalam sel-sel kanker dan peningkatan permeabilitas membran.

Mekanisme *Asiatic acid* atau turunan senyawa triterpen melibatkan aktivasi sinyal transduksi *extracellular signal-regulated kinase* (ERK 1/2) dan jalur p38 *mitogen-activated protein kinase* (p38 MAPK), kedua jalur tersebut responsif terhadap rangsangan stress, misalnya *shock osmotic*. Kemudian jalur intrinsik apoptosis transisi permeabilitas membran mitokondria (Hsu *et al.*, 2005).

Transisi permeabilitas mitokondria menyebabkan peningkatan kalsium sitosol, stres oksidatif intrasel (Kumar *et al.*, 2007).

Jalur apoptotik mitokondria ditandai dengan penurunan kadar protein Bcl-2 (anti-apoptosis), dan translokasi protein Bax (protein pro-apoptosis) dari sitoplasma ke mitokondria, sehingga terjadi pelepasan sitokrom c ke sitoplasma (Hsu *et al.*, 2005). Selanjutnya mengaktivitas *caspase-9*, kemudian aktivitas *caspase-3* dan pembelahan *poly(ADP-ribose) polymerase* (PARP) yang mengakibatkan kematian apoptotik irreversibel dalam sel tumor. *Caspase-3* merupakan *caspase* akhir yang bertanggung jawab sebagian besar proses apoptotik, menyebabkan pembelahan atau degradasi dari beberapa substrat penting, termasuk PARP. PARP dapat membantu sel-sel untuk mempertahankan kelangsungan hidup, tetapi pembelahan PARP memfasilitasi pembongkaran selular dan berfungsi sebagai penanda bahwa sel mengalami apoptosis (Tang *et al.*, 2009).

Dengan demikian, pegagan merupakan satu diantara tumbuhan herba yang dapat dimanfaatkan sebagai pengobatan kanker. Walaupun, keberadaan tanaman ini terkadang menjadi gulma yang mengganggu tanaman budi daya.

Pernyataan di atas menunjukkan bahwa Allah SWT menciptakan tumbuh-tumbuhan yang menjadi tanda-tanda kebesaran dan kekuasaan-Nya bagi manusia agar dapat mengambil manfaatnya. Seperti pegagan yang merupakan tumbuhan herba liar di Indonesia dapat digunakan sebagai pengobatan kanker. Dengan demikian, Allah SWT menciptakan segala macam tumbuh-tumbuhan di muka

bumi ini tidak sia-sia. Sebagaimana tercantum dalam al-Qur'an surah Ali-'Imran ayat 191, Allah SWT berfirman:

الَّذِينَ يَذْكُرُونَ اللَّهَ قِيَمًا وَقُعُودًا وَعَلَىٰ جُنُوبِهِمْ وَيَتَفَكَّرُونَ فِي خَلْقِ السَّمَوَاتِ وَالْأَرْضِ رَبَّنَا مَا خَلَقْتَ هَذَا بَطْلًا سُبْحَانَكَ فَقِنَا عَذَابَ النَّارِ ﴿١٩١﴾

Artinya: (yaitu) orang-orang yang mengingat Allah sambil berdiri atau duduk atau dalam keadan berbaring dan mereka memikirkan tentang penciptaan langit dan bumi (seraya berkata): "Ya Tuhan Kami, Tiadalah Engkau menciptakan ini dengan sia-sia, Maha suci Engkau, Maka peliharalah Kami dari siksa neraka (Q.S. Al-'Imran:191).

Ayat di atas menjelaskan bahwa pengenalan alam raya dengan penggunaan akal, yakni berpikir. Akal memiliki kebebasan seluas-luasnya untuk memikirkan fenomena alam (Shihab, 2002). Dengan memerhatikan dan memikirkan di setiap waktu dan keadaan, baik di waktu berdiri, duduk dan berbaring segala sesuatu mengenai penciptaan-Nya yang ada di langit maupun beserta isinya mempunyai hikmah dan tujuan tertentu yaitu memperoleh manfaat dan faedahnya supaya bisa diambil pelajaran bagi manusia. Dengan demikian Allah SWT tidak menciptakan makhluk yaitu langit dan bumi beserta segala isinya dengan sia-sia.

Penggunaan obat-obatan yang diperoleh dari bahan alam telah ada sejak zaman Nabi Muhammad SAW. Hal ini ditunjukkan dalam hadis-hadis Nabi yang berkaitan dengan pengobatan. Hadis Nabi yang paling terkenal tentang pengobatan (Zaid *et al.*, 2010), yaitu: *Tidak ada penyakit yang Allah SWT ciptakan, kecuali Dia juga ciptakan pengobatannya, Gunakan pengobatan medis, karena Allah SWT tidak membuat penyakit tanpa obatnya, dengan kecuali satu penyakit yaitu penuaan (umur tua). Allah SWT menurunkan penyakit dan obat, dan Dia menetapkan obat bagi setiap penyakit, sehingga berobatlah dirimu*

secara medis, Satu penyakit diturunkan obatnya, Untuk setiap penyakit Allah SWT telah memberikan obatnya.

Selain itu dalam ayat Al-Qur'an juga menekankan bahwa setiap penyakit memiliki obatnya sebagaimana firman Allah SWT dalam surah Al-Israa' ayat 82:

وَنُنَزِّلُ مِنَ الْقُرْآنِ مَا هُوَ شِفَاءٌ وَرَحْمَةٌ لِّلْمُؤْمِنِينَ وَلَا يَزِيدُ الظَّالِمِينَ إِلَّا خَسَارًا ﴿٨٢﴾

Artinya: *dan Kami turunkan dari Al Quran suatu yang menjadi penawar dan rahmat bagi orang-orang yang beriman (Q.S. Al-Israa': 82)*

Makna *syifa'* (شفاء) biasa diartikan kesembuhan atau obat, dan digunakan juga dalam arti keterbebasan dari kekurangan, ketiadaan suatu penghalang dalam memperoleh manfaat (Shihab, 2002). Ayat di atas menjelaskan bahwa al-Qur'an diturunkan oleh Allah SWT sebagai rahmat kepada manusia. Bagi Ilmuwan Sains, di dalam ayat-ayat al-Quran terdapat petunjuk dan penawar khususnya dalam bidang pengobatan supaya dapat diambil pelajaran.

Sebagaimana Hadis nabi Muhammad SAW mengajarkan cara efektif untuk mencegah penyakit yaitu *makanan adalah sumber penyakit, namun program diet adalah sumber kesehatan* (Zaid et al., 2010). Sedangkan dalam al-Qur'an surah al-A'raaf ayat 31 menerangkan bahwa setiap makan dan minum dilarang untuk berlebih-lebihan, sebab berlebih-lebihan dalam makan dan minum akan mendatangkan penyakit Allah SWT berfirman:

﴿ يَا بَنِي آدَمَ خُذُوا زِينَتَكُمْ عِندَ كُلِّ مَسْجِدٍ وَكُلُوا وَاشْرَبُوا وَلَا تُسْرِفُوا ۚ إِنَّهُ لَا يُحِبُّ

الْمُسْرِفِينَ ﴿٣١﴾

Artinya: *Hai anak Adam, pakailah pakaianmu yang indah di Setiap (memasuki) mesjid, Makan dan minumlah, dan janganlah berlebih-lebihan. Sesungguhnya Allah tidak menyukai orang-orang yang berlebih-lebihan*

