

UJI AKTIVITAS PENGHAMBATAN FRAKSI POLAR EKSTRAK KLIKA ANA' DARA (*Croton oblongus* Burm F) TERHADAP SEL KANKER HeLa

Asrul Ismail¹, Gemy Nastyty Handayani², Asriani Buhari³

Jurusan Farmasi Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan UIN Alauddin Makassar
Email : asrul.ismail@uin-alauddin.ac.id, asriani.noni@gmail.com

ABSTRAK

Telah dilakukan penelitian mengenai Uji Aktivitas Penghambatan Fraksi Polar Ekstrak Klika Ana' Dara (*Croton oblongus* Burm F) terhadap sel kanker HeLa. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui bagaimana aktivitas penghambatan serta menentukan nilai IC₅₀ dari fraksi polar ekstrak klika ana' dara (*Croton oblongus* Burm F) terhadap sel kanker HeLa (Kanker serviks).

Penentuan aktivitas penghambatan dilakukan dengan metode MTT Assay terhadap sel line Hela guna melihat potensi antikanker dari fraksi polar ekstrak klika ana' dara (*Croton oblongus* Burm F). Fraksi uji dibuat dengan konsentrasi 1000; 500; 250; 125; 62,5; 31,25; dan 15,625 µg/ml, diujikan pada media yang berisi sel HeLa. Jumlah sel yang hidup dilihat berdasarkan nilai absorbansi dari warna yang terbentuk oleh reaksi reduksi garam tetrazolium MTT.

Parameter penelitian adalah menentukan nilai IC₅₀ dari hasil persamaan regresi antara log konsentrasi fraksi vs probit kematian sel. Dari persamaan regresi linier yang diperoleh didapat hasil IC₅₀ sebesar 230,4092 µg/mL. Berdasarkan analisis sitotoksitas terhadap sel HeLa, dapat disimpulkan bahwa fraksi Polar Ekstrak Klika Ana' Dara (*Croton oblongus* Burm f.) kurang berpotensi terhadap sel kanker serviks.

Kata Kunci : Klika *Croton oblongus*, Kanker Serviks, Sel HeLa, MTT, Antikanker

PENDAHULUAN

Kanker merupakan suatu penyakit sel yang ditandai dengan hilangnya fungsi kontrol sel terhadap regulasi daur sel maupun fungsi homeostatis sel pada organisme multiseluler. Dengan kegagalan tersebut, sel tidak dapat berproliferasi secara normal. Akibatnya, sel akan berproliferasi terus-menerus sehingga menimbulkan pertumbuhan jaringan yang abnormal (Sugiyarto, 2013 : 12).

Menurut American Cancer Society pada tahun 2014 diperkirakan 4.020 kematian akibat kanker serviks, dan 12.360 kasus kanker serviks diharapkan dapat didiagnosis (American Cancer Society, 2014: 2).

Kanker leher rahim atau serviks adalah penyakit yang disebabkan oleh proses keganasan yang terjadi pada serviks atau mulut rahim. Penyebab kanker leher rahim belum diketahui secara pasti, namun diduga sekitar 95% disebabkan oleh Human Papilloma Virus (HPV) (Canava dan Doshi, 2000).

Kemoterapi merupakan salah satu langkah penyembuhan dalam kanker tetapi memiliki efek samping yang tidak menyenangkan, penyembuhan yang kurang tuntas bahkan terjadi resistensi obat. Alternatif

pengobatan kanker dapat dilakukan dengan memanfaatkan senyawa yang terkandung dalam bahan alam. Oleh karena itu perlu adanya penelitian mengenai alternatif pengobatan kanker serviks yang efektif dan efisien berbasis bahan alam (Handoko,dkk, 2011 : 222).

Salah satu dari bahan alam yang mempunyai aktivitas sebagai agen kemoprevensi kanker adalah klika Ana' Dara (*Croton oblongus* Burm F.).Salah satu kandungan utama dalam klika ana' dara yang bersifat sitotoksik adalah flavanoid. Berdasarkan penelitian sebelumnya ekstrak metanol klika ana' dara (*Croton oblongus* Burm F) dengan uji metode BST (*Brine Shrimp lethality Test*) memiliki efek toksik terhadap *Artemia salina* Leach dengan nilai LC_{50} sebesar 3,89 $\mu\text{g/ml}$ dan memiliki potensi sebagai antikanker. Selain itu, ekstrak metanol klika Ana' Dara (*Croton oblongus* Burm F.) memiliki aktivitas antioksidan (zat yang dapat menetralkan radikal bebas) yang kuat terhadap DPPH dengan nilai IC_{50} sebesar 91,96 $\mu\text{g/ml}$. Sehingga dapat melindungi sistem biologi tubuh dari efek merugikan yang timbul dari proses ataupun reaksi yang menyebabkan oksidasi yang berlebihan sehingga mampu menghambat aktivasi karsinogen.

Oleh karena itu perlu dilakukan uji sitotoksisitas fraksi polar ekstrak klika ana' dara (*Croton oblongus* Burm F) terhadap sel kanker serviks (sel HeLa).

METODE PENELITIAN

Tempat dan Waktu pelaksanaan

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Biologi Farmasi Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Islam Negeri Alauddin Makassar dan Fakultas Kedokteran Universitas Gadjah Mada Yogyakarta. Dimulai pada bulan Januari - Maret 2015.

Prosedur Penelitian

a. Ekstraksi

Sampel klika ana' dara (*Croton oblongus* Burm F.) yang telah dirajang ditimbang sebanyak 500 gram, dimasukkan kedalam wadah maserasi, kemudian dituang cairan penyari n-heksan ke dalam wadah maserasi yang telah berisi sampel klika ana' dara kering hingga terendam, ditutup dan dibiarkan selama 1x24 jam terlindung dari cahaya. Setelah 1x24 jam, disaring ke dalam wadah penampung dan ampas yang diperoleh selanjutnya dimaserasi kembali dengan penyari n-heksan yang baru. Maserasi ini dilakukan sebanyak 3 kali penyarian. Ampas n-heksan yang diperoleh diangin-anginkan hingga kering dengan tujuan untuk menguapkan pelarut n-heksan yang ada. Ampas kering yang diperoleh dimasukkan kembali ke dalam wadah maserasi yang baru dan ditambahkan pelarut metanol hingga terendam untuk memperoleh ekstrak yang lebih polar dari ekstrak n-heksan dan dibiarkan selama 1x24 jam terlindung dari cahaya, dilakukan hal yang sama dengan perlakuan pada pelarut sebelumnya, hingga diperoleh filtrat

n-heksan dan metanol. Hasil dari penyarian yang diperoleh kemudian dikeringkan dengan menggunakan desikator vakum.

b. Fraksinasi

Fraksinasi dilakukan dengan metode KCV, ekstrak metanol klika ana' dara (*Croton oblongus* Burm F.) ditimbang sebanyak 3 gram dan ditimbang silika gel sebanyak 20 gram. Dilarutkan ekstrak dengan metanol secukupnya, lalu ditambahkan sedikit demi sedikit silika gel hingga ekstrak mengering seperti serbuk. Dimasukkan silika gel dan ekstrak ke dalam gelas Kromatografi Cair Vakum (KCV) dan dimampatkan dengan pompa vakum kemudian dielusi dengan eluen etil : metanol. Cairan pengelusi dibuat dengan gradien kepolaran yang meningkat berdasarkan profil KLT. Fraksi-fraksi yang diperoleh diuapkan, kemudian dilihat profil KLT-nya. Fraksi yang memiliki kromatogram dan warna bercak yang sama digabung menjadi satu, kemudian diangin-anginkan hingga menjadi fraksi kental untuk diujikan ke sel HeLa.

c. Penyiapan Larutan Uji

Fraksi polar klika ana' dara ditimbang sebanyak 10 mg dan dilarutkan menggunakan pelarut DMSO sebanyak 100 µL, sehingga diperoleh larutan stok dengan konsentrasi 100 mg/mL. Larutan uji dibuat dengan konsentrasi 1000; 500; 250; 125; 62,5; 31,25; dan 15,625 dari larutan stok.

d. Uji Sitotoksik dengan MTT

Uji sitotoksik dilakukan dengan cara sel yang telah dikultur dipanen, kemudian sel HeLa dimasukkan dalam sumuran plate 96-well. Uji sitotoksik dilakukan dengan metode MTT. Larutan uji dibuat dengan seri kadar 1000 µg/ml; 500 µg/ml; 250 µg/ml; 125 µg/ml; 62,5 µg/ml; 31,25 µg/ml; 15,625 µg/ml dan dibuat kontrol sel serta kontrol blank. Sel didistribusikan ke dalam 96 sumuran dan diinkubasi bersama fraksi uji selama 1 x 24 jam. Pada masing-masing sumuran ditambah 100µl MTT. Selanjutnya diinkubasi lagi 4 jam pada suhu 37° C. Sel yang hidup akan bereaksi dengan MTT membentuk warna ungu. Reaksi MTT dihentikan dengan SDS (reagen stopper), lalu diinkubasi semalam pada suhu kamar. Serapan dibaca pada *ELISA reader* pada panjang gelombang 595 nm. Dari data absorbansi yang diperoleh dihitung % inhibisi dengan menggunakan rumus :

$$\frac{(\text{Serapan kontrol sel} - \text{Serapan blank}) - (\text{Serapan uji} - \text{Serapan blank})}{\text{serapan kontrol sel} - \text{Serapan blank}} \times 100\%$$

Selanjutnya data diolah dengan menggunakan analisis probit untuk mendapatkan nilai IC₅₀ sampel yang menunjukkan persentase kematian sel pada kultur sebanyak 50 %.

HASIL PENELITIAN

Pada fraksi A dari klika ana' dara (*Croton oblongus* Burm F) menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi dari sampel uji yang diberikan maka semakin kecil persentase kehidupan sel HeLa dan semakin besar sifat toksisitasnya.

Sedangkan untuk fraksi B tidak memiliki penghambatan terhadap pertumbuhan sel HeLa begitu pula dengan fraksi C yang memiliki nilai penghambatan yang rendah terhadap sel HeLa.

Berdasarkan pengolahan data yang telah dilakukan dengan metode analisis probit diperoleh nilai IC₅₀ dari fraksi A, B dan C (dapat dilihat pada tabel 1).

Tabel 1. Hasil perhitungan IC₅₀ dan jumlah penghambatan terhadap sel HeLa berdasarkan tiap konsentrasi.

a. Fraksi A

Konsentrasi	Log konsentrasi	Absorbansi	% Inhibisi	Nilai Probit	Persamaan Regresi	IC ₅₀
1000	3	0.130	97	6.88	Y= 3.6947 X - 3.7285	230.4092 µg/mL
500	2.698	0.155	93	6.48		
250	2.397	0.244	80.352	5.84		
125	2.096	0.718	10.85	3.77		
62.5	1.795	0.784	1.173	2.67		
31.25	1.494	0.799	0	-		
15.625	1.193	0.817	0	-		

b. Fraksi B

Konsentrasi	Log konsentrasi	Absorbansi	% Inhibisi	Nilai Probit	Persamaan Regresi	IC ₅₀
1000	3	0.691	14.809	3.95	-	-
500	2.698	0.782	1.466	2.67		
250	2.397	0.822	0	-		
125	2.096	0.845	0	-		
62.5	1.795	0.913	0	-		
31.25	1.494	0.927	0	-		
15.625	1.193	0.946	0	-		

c. Fraksi C

Konsentrasi	Log konsentrasi	Absorbansi	% Inhibisi	Nilai Probit	Persamaan Regresi	IC ₅₀
1000	3	0.650	20.82	4.19	Y= 0.44 X + 2.9262	51.641,6369 µg/mL
500	2.698	0.661	19.20	4.12		
250	2.397	0.685	15.689	4.01		
125	2.096	0.697	13.92	3.93		
62.5	1.795	0.724	9.97	3.72		
31.25	1.494	0.744	7.038	3.52		
15.625	1.193	0.754	5.571	3.45		

Hasil tersebut menunjukkan bahwa dari setiap fraksi tidak ada yang dapat digunakan sebagai obat antikanker, karena syarat suatu senyawa sebagai antikanker yaitu nilai IC₅₀ < 30 µg/mL (Cho, 1998).

KESIMPULAN

1. Fraksi A dari fraksi polar ekstrak Klika Ana' Dara (*Croton oblongus* Burm F) memiliki aktivitas penghambatan terhadap sel HeLa sedangkan fraksi B dan fraksi C tidak memiliki aktivitas penghambatan terhadap sel HeLa.
2. Fraksi A dari fraksi polar ekstrak Klika Ana' Dara (*Croton oblongus* Burm F) memiliki nilai IC₅₀ sebesar 230,4092 µg/mL terhadap sel kanker HeLa.

KEPUSTAKAAN

ATCC. *HeLa Cell*. Diambil dari: <http://www.atcc.org> diakses pada tanggal 24 februari 2015. 2011

Buhler, Miranda C. *Antioxidant activities of Flavonoids [online]*. Available from: <http://lpi.oregonstate.edu/fwoo/flavonoid.htm>. 2009

Canava, T.P, Doshi N. R. "Cervical cancer Physic". 2000

CCRC. "Prosedur Tetap Uji Sitotoksik Metode MTT". Yogyakarta : Cancer Chemoprevention research center : Fakultas Farmasi UGM. 2012

- Cho, S.J, et al. "Novel Cytotoxic Polyphenila-terd Xanthones From *Garcinia gaundichaudii*(Guttiferae)". *Tetrahedron*: 10915-10924. 1998
- Demeule M et al. *Green tea catechin as novel antitumor and antiangiogenic compounds*. *Curr.Med. Chem-Anti-Cancer Agent*, p. 2:441-63.
- Djajanegara, I., Prio Wahyudi. "Pemakaian Sel HeLa dalam Uji Sitotoksisitas Fraksi Kloroform dan Etanol Ekstrak Daun *Annona squamosa*". *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia*, April 2009, hal 7-11. Jakarta.
- Freshney, R.I. "Culture of Animal Cells : A manual Basic of Technique". New York : Wiley – Liss Inc. 2000
- Handoko, dkk. "Aktivitas sitotoksik ekstrak etanolik rimpang temu kunci (*Boesenbergia Pandurata*) terhadap sel kanker Hela dan sel kanker kolon WiDr". *Yogyakarta : Majalah Kesehatan PharmaMedika vol.3 No.1*. 2011
- Listyowati, dkk. "Efek sitotoksik dan pemacuan apoptosis fraksi Petroleum eter ekstrak etanol daun tapak liman (*Elephantopus scaber Linn*) terhadap sel Hela". *Yogyakarta : Fakultas Farmasi Universitas Ahmad Dahlan*. 2013
- Puji, et al. *Uji Sitotoksisitas Dan Efek Ekstrak Spons Laut Aaptos suberitoides Terhadap Sel Kanker Serviks (HeLa) Secara In Vitro*. 2011
- Ritmaleni, et al. "Sintesis dan uji sitotoksisitas senyawa LR-2 pada sel kanker payudara T47D". *Majalah Farmasi Indonesia*. 2011
- Society American Cancer. "Cancer facts & figures 2014". 250 William street,NW, Atlanta : American Cancer Society. 2014
- Sugiyarto, Wahyu. "Uji sitotoksisitas fraksi Butanol kulit batang srikaya (*Annona squamosa L*) terhadap sel Hela". Jakarta : Universitas 17 agustus 1945. 2013
- Susilowati, dkk. Uji sitotoksisitas fraksi n – Heksana ekstrak etanol Herba alfalfa (*Medicago sativa L*) pada sel T47D dan sel HeLa serta identifikasi kandungan senyawa kimianya. Fakultas Farmasi Universitas Wahid Hasyim. Semarang. 2002
- Vizcaino F et al. *The flavonoid quercetininduced apoptosis and inhibits JNK activation in intimal vascular smooth muscle cells*. *Biochemical and Biophysical Research communications* [serial online]; 346 (3):919-25. Available from:<http://www.sciencedirect.com>. 2006
- Wilson A.P. "Cytotoxicity and Viability Assays". Dalam JRW Masters, ed. *Animal Cell Culture : A Practical approach*, 3rd ed. Oxford: Oxford University Press. 2000