

# UJI AKTIVITAS PENGHAMBATAN FRAKSI NON POLAR EKSTRAK KLIKA ANAK DARA (*Croton oblongus* BURM F.) TERHADAP SEL KANKER HELA

Nurshalati Tahar<sup>1</sup>, Haeria<sup>2</sup>, Hamdana<sup>3</sup>

Jurusan Farmasi, Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas Islam Negeri Alauddin, Makassar

## ABSTRAK

Anak Dara (*Croton oblongus* Burm f.) merupakan tanaman asli Indonesia. Telah dilakukan penelitian Uji Aktivitas Penghambatan Fraksi Non Polar Ekstrak Klika Anak Dara (*Croton oblongus* Burm f.) terhadap Sel Kanker HeLa dengan tujuan untuk menentukan aktivitas penghambatan fraksi non polar ekstrak Klika Anak Dara (*Croton oblongus* Burm f.) terhadap sel kanker HeLa dengan metode MTT. Fraksi non polar ekstrak klika anak dara (*Croton oblongus* Burm f.) diperoleh fraksi A, B dan C, dibuat dengan konsentrasi 1000 ppm; 500 ppm; 250 ppm; 125 ppm; 62,5 ppm; 31,25 ppm; dan 15,625 ppm, serta digunakan kontrol sel dan kontrol MTT. Setiap fraksi diujikan terhadap sel HeLa dan ditambahkan MTT untuk mengetahui sel yang masih hidup dengan mengukur absorbansinya pada ELISA Reader.

Hasil analisis probit menunjukkan nilai IC<sub>50</sub> fraksi A, B dan C yaitu 218,776 µg/mL; 107,15 µg/mL; 281,838 µg/mL. Berdasarkan hasil tersebut diketahui bahwa fraksi non polar ekstrak Klika Anak Dara (*Croton oblongus* Burm f.) memiliki aktivitas penghambatan terhadap sel kanker HeLa pada konsentrasi tinggi, namun tidak dapat digunakan sebagai obat antikanker.

**Kata Kunci:** Klika Anak Dara, sel HeLa, Penghambatan, MTT

## PENDAHULUAN

Kanker serviks adalah tumor ganas yang tumbuh pada leher rahim. Sekitar 90% dari kanker serviks berasal dari sel yang melapisi serviks dan 10% berasal dari sel kelenjar penghasil lendir pada saluran servikal yang menuju ke dalam rahim. Di Indonesia, kasus kanker serviks termasuk ke dalam kasus kanker terbanyak yang menyerang kaum perempuan (Tjindarbumi, 2002: 32). Kasus kanker serviks menempati urutan kedua setelah kanker payudara dari 10 kasus kanker terbanyak di RSKD (Radji, T., dkk., 2010).

Pada penelitian ini digunakan kultur sel kanker HeLa (kanker rahim). Dimana sel kanker HeLa termasuk sel lestari, sel hasil dari kultur sel (biakan sel) yang telah disubkultur secara terus menerus (Malole, 1990). Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas penghambatan fraksi non polar ekstrak klika anak dara (*Croton oblongus* Burm f.) terhadap Sel Kanker Hela.

## METODE PENELITIAN

**Bahan:** Bahan yang digunakan adalah etanol 70%, heksan, kultur sel kanker HeLa, media DMEM (*Dulbecco's Modified Eagle Media*) komplit [*Foetal Bovine Serum* (FBS) 10%, fungizon 0,5%, Hepes (*N-2-hydroxyethylpiperazine-2-ethanesulfonic acid*)], Natrium bikarbonat ( $\text{NaHCO}_3$ ), metanol, MTT (*3-(4,5-dimetil tiazol 2-yl)-2,5-difenil tetrazolium bromida*), PBS (*Phosphate Buffer Saline*), penisilin-streptomisin 2%, SDS (*Sodium Dodecyl Sulphate*).

### A. Pengolahan Sampel

Sampel klika anak dara (*Croton oblongus* Burm f.) diambil dari dusun Bongkong Kabupaten Sinjai Tengah, Sulawesi Selatan dibersihkan dari kotoran dan dikeringkan dengan cara diangin-anginkan, kemudian dirajang. Sampel yang telah dirajang ditimbang sebanyak 500 gram, kemudian dimaserasi dengan pelarut n-heksan selama 3 hari. Ekstrak dikeringkan dengan cara diangin-anginkan.

Fraksinasi dilakukan dengan metode Kromatografi Cair Vakum (KCV) menggunakan eluen heksan:etil. 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.

Fraksi non polar klika anak dara ditimbang sebanyak 10 mg dan dilarutkan menggunakan pelarut DMSO sebanyak 100  $\mu\text{L}$ , sehingga diperoleh larutan stok dengan konsentrasi 100 mg/mL. Larutan uji dibuat dengan konsentrasi 1000; 500; 250; 125; 62,5; 31,25; 15,625 dan 7,8125  $\mu\text{g/mL}$  dari larutan stok.

### B. Uji Aktivitas Penghambatan Sel HeLa

Sel HeLa ditumbuhkan dalam media DMEM dan diinkubasi dalam inkubator pada suhu 37°C dengan aliran 5%  $\text{CO}_2$ . Sel konfluen dilepas dengan teknik tripsinasi, Suspensi sel dalam media komplit DMEM sebanyak 100  $\mu\text{L}$  dimasukkan pada microplate 96 sumuran. Setelah itu ditambahkan larutan uji setiap fraksi, masing-masing sebanyak 100  $\mu\text{L}$  dengan 4 replikasi. Selanjutnya media komplit DMEM sebanyak 100  $\mu\text{L}$  ditambahkan pada 4 sumuran yang lain sebagai kontrol sel dan 4 sumuran dibiarkan kosong sebagai blanko lalu diinkubasi pada 37°C dalam inkubator  $\text{CO}_2$  5% selama 24 jam.

Pada masing-masing sumuran, ditambahkan 100  $\mu\text{L}$  larutan MTT. Sel diinkubasi kembali selama 4 jam dalam inkubator  $\text{CO}_2$  5%, 37°C. Reaksi MTT dihentikan dengan menambahkan SDS 100  $\mu\text{L}$ , diinkubasi dalam ruang gelap selama semalam. Serapan dibaca dengan

### Analisis Data

Pada masing-masing sumuran, ditambahkan 100  $\mu\text{L}$  larutan MTT. Sel diinkubasi kembali selama 4 jam dalam inkubator  $\text{CO}_2$  5%, 37°C. Reaksi MTT

dihentikan dengan menambahkan SDS 100 µL, diinkubasi dalam ruang gelap selama semalam. Serapan dibaca dengan *microplate ELISA reader* pada panjang gelombang 595 nm.

Pada metode MTT, persentase kematian sel merupakan selisih absorbansi kontrol dengan absorbansi sampel dibagi absorbansi kontrol dikalikan 100%.

Data diolah dengan menggunakan analisis Probit untuk mendapatkan nilai IC<sub>50</sub> sampel. Nilai IC<sub>50</sub> menunjukkan persentase kematian sel pada kultur sebanyak 50%.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Sampel klika anak dara (*Croton oblongus* Burm f.) dimaserasi dengan menggunakan pelarut n-heksan karena senyawa yang diinginkan adalah senyawa non polar.

Ekstrak n-heksan yang diperoleh difraksinasi dengan metode kromatografi cair vakum karena metode tersebut dapat mempermudah proses pemisahan senyawa dan tidak membutuhkan waktu yang lama dalam pengerjaannya dimana penarikan senyawanya dibantu dengan alat pompa vakum. Adapun eluen yang digunakan yaitu heksan:etil karena pada saat pencarian profil yang telah dilakukan didapatkan pemisahan yang baik untuk ekstrak n-heksan klika anak dara pada eluen heksan:etil (5:1), berdasarkan hasil tersebut dibuat perbandingan eluen yang akan digunakan untuk mengelusi berdasarkan gradien kepolaran. Cairan

Masing–masing absorbansi telah dikoreksi dengan absorbansi dari medium saja tiap kadar. Perhitungan persen penghambatan (inhibisi) sel menggunakan metode MTT Menggunakan rumus berikut :

% inhibisi =

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

pengelusi yang digunakan dimulai dari non polar hingga yang lebih polar agar senyawa yang ditarik sesuai dengan eluen yang digunakan dan terjadi pemisahan yang diinginkan. Fraksi-fraksi yang diperoleh dilihat profil KLT-nya, fraksi yang memiliki kromatogram dan warna bercak yang sama digabung menjadi satu karena berdasarkan kesamaan kromatogram tersebut dapat dianalogikakan memiliki senyawa yang sama serta untuk meminimalkan jumlah fraksi yang diperoleh dan memperbanyak kadar setiap fraksi karena telah digabungkan. Pada pengerjaannya diperoleh 3 fraksi yaitu fraksi A, B dan C dengan berat masing-masing 10,365 mg; 0,5414 mg; dan 0,811 mg.

Fraksi non polar yang diperoleh dilarutkan dengan pelarut DMSO karena bersifat bipolar sehingga dapat melarutkan fraksi non polar klika anak dara lebih sempurna dibandingkan pelarut lain, DMSO paling umum digunakan untuk melarutkan senyawa bahan alam yang digunakan untuk pengujian efek toksik serta tidak memberikan efek yang berarti

terhadap sampel ataupun sel uji, sehingga tidak mempengaruhi hasil pengujian.

Sel HeLa ditumbuhkan dalam media DMEM yang mengandung 10% *Fetal Bovine Serum* (FBS) sebagai sumber nutrisi, Penstrep 2% sebagai anti bakteri, Fungizon 0,5% sebagai anti jamur, dan 87,5% *Phosphate Buffer Saline* (PBS) dan diinkubasi dalam inkubator pada suhu 37°C dengan aliran 5% CO<sub>2</sub> karena pada kondisi tersebut baik untuk pertumbuhan sel uji.

Pada masing-masing sumuran ditambahkan larutan MTT, dimana MTT akan diabsorpsi ke dalam sel hidup dan dipecah melalui reaksi reduksi oleh enzim reduktase dalam rantai respirasi mitokondria menjadi formazan. Reaksi MTT dihentikan dengan menambahkan SDS untuk memecah kristal formazan yang terbentuk dan memberikan warna ungu, diinkubasi dalam ruang gelap selama semalam. Serapan dibaca dengan *microplate ELISA reader* pada panjang gelombang 595 nm karena pada panjang gelombang tersebut merupakan panjang gelombang maksimum untuk mengabsorpsi MTT.

Berdasarkan pengolahan data yang telah dilakukan dengan metode analisis probit diperoleh nilai IC<sub>50</sub> dari fraksi A, B dan C berturut-turut yaitu 218,776 µg/mL;

107,15 µg/mL; 281,838 µg/mL, dapat dilihat pada tabel 1, tabel dan tabel 3. Hasil tersebut menunjukkan bahwa dari setiap fraksi tidak ada yang dapat digunakan sebagai obat antikanker, karena syarat suatu senyawa sebagai antikanker yaitu nilai IC<sub>50</sub> < 30 µg/mL (Cho, 1998). Hasil ini dapat diakibatkan karena fraksi polar klick anak dara memang tidak memiliki efek sebagai antikanker terhadap sel HeLa, namun dapat juga diakibatkan karena kesalahan pada saat pengerjaan yang dapat berupa kontaminan, sehingga pada saat pembacaan absorbansi memberikan hasil absorbansi yang tinggi akibat adanya kontaminan berupa bakteri yang menyerap MTT dan membentuk formazan yang memberikan warna ungu ketika ditambahkan reagen stopper.

## KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa fraksi non polar ekstrak klick anak dara memiliki efek penghambatan terhadap sel kanker HeLa, namun tidak memiliki efek sebagai antikanker diperoleh hasil berupa nilai IC<sub>50</sub> dari fraksi A, B dan C yaitu 218,776 µg/mL; 107,15 µg/mL; 281,838 µg/mL yang tidak memenuhi syarat nilai IC<sub>50</sub> sebagai antikanker yaitu < 30 µg/m

## KEPUSTAKAAN

- Cho, S.J, *et al.* *Novel Cytotoxic Polyprenila-terd Xanthones From Garcinia gaundichaudii (Guttiferae)*. Tetrahedron. 1998.
- Radji, M., Hendri Aldrat, Yahdiana Harahap, C. Irawan. Uji Sitotoksitas Buah Merah, Mahkota Dewa dan Temu Putih Terhadap Sel Kanker Serviks. *Jurnal Farmasi Indonesia* V. 5 No. 1. 2010.
- Said, Anugrah Yuniarti. "Uji Toksisitas Ekstrak Klika Anak Dara (*Croton oblongus* Burm f.) Dengan Metode *Brine Shrimp Lethality Test*". *Skripsi*. Makassar: Farmasi UIN Alauddin. 2014.
- Tjindarbuni D, R. Mangunkusumo. *Cancer in Indonesia, Present and Future*. Japan J. Clin Oncol. 2002