

IDENTIFIKASI EKSTRAK DAUN KOPASANDA (*Chromolaena odorata* Linn) TERHADAP SEL ANTIPROLIFERASI TIKUS LEUKEMIA L1210

Muhammad Fitrah

*Jurusan Farmasi Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan
Universitas Islam Negeri Alauddin Makassar
E-mail : fitrahilyas7@gmail.com, muhfitrah7@gmail.com*

ABSTRACT

The anticancer activity of the extract kopasanda leaf against leukemia cells L1210. Simplicial kopasanda leaves extracted by maceration terraced with solvent n-heksan, etil asetat, etanol, and water. Test antiproliferative activity against leukemia cells L1210 to the extract in an instant four vitro indicate that IC50 extract respectively 9,2982 µg/mL (etil asetat), 11,3397 µg/mL air, 13,6176 µg/mL (etanol), and 14,1645 µg/mL (*n*-heksan).

Kata kunci : daun kopasanda, antiproliferasi, sel leukemia L1210

PENDAHULUAN

Pesatnya perkembangan ilmu pengetahuan dan teknologi serta berubahnya pola hidup masyarakat berdampak pada munculnya berbagai penyakit degeneratif. Penyakit degeneratif yang sering ditemukan dalam penyakit kanker. Kanker adalah suatu proliferasi sel-sel yang tidak teratur. Pada berbagai kasus, laju proliferasi sangat tinggi. Hal yang membedakan kanker dengan sel normal yaitu sel-sel kanker tidak pernah berhenti membelah (Kimbal, 1983). Kanker merupakan penyakit yang menempati peringkat kedua penyebab kematian di dunia. Hal ini menyebabkan pengembangan penelitian untuk menemukan obat-obat baru terus berkembang, bahkan dari bahan alam pun kini banyak diteliti untuk pengobatan kanker (Anderson, 1983).

Salah satu tumbuhan yang biasa digunakan sebagai bahan obat adalah daun kopasanda (*Chromolaena odorata* L.) atau disebut dengan nama Sunda Kirinyu, tumbuhan ini oleh masyarakat wilayah makassar digunakan sebagai obat luka dan antioksidan.

Daun kopasanda (*Chromolaena odorata* L.) merupakan salah satu jenis tumbuhan dari famili *Compositae*. Daunnya mengandung beberapa senyawa utama seperti tannin, fenol, flavonoid, saponin dan steroid. Minyak essensial dari daunnya memiliki kandungan α -pinene, cadinene, camphora, limonene, β -caryophyllene dan candinol isomer (Benjamin, 2011).

Daun kopasanda (*Chromolaena odorata* L.) dikenal dengan nama tekelan atau gulma siam yang mengganggu pertumbuhan tanaman lain dan mengurangi kesuburan tanah.

Ekstrak kasar daun *Chromolaena odorata* memiliki efek antioksidan. Efek yang dihasilkan ini disebabkan oleh kandungannya yang tinggi akan flavonoid yang memiliki aktivitas antioksidan, yang mampu menghambat proses oksidasi (Ngozi, 2009). Kopasanda adalah gulma yang awalnya diketahui berasal dari Amerika Selatan dan Tengah, kemudian menyebar ke daerah tropis Asia, Afrika, Pasifik, dan Indonesia. Gulma ini dicirikan sebagai semak berkayu yang dapat berkembang dengan cepat. Gulma ini merupakan pesaing agresif dan mungkin memiliki efek allelopati.

Kopasanda ini merupakan tumbuhan yang merugikan karena menyebabkan diare pada ternak yang mengkonsumsinya dan jika dikonsumsi terlalu banyak dapat menyebabkan keracunan bahkan kematian pada ternak (Prawiradiputra, 2007). Kandungan nitratnya yang tinggi (lima hingga enam kali di atas kadar toksik) juga dapat menyebabkan aborsi bahkan kematian ternak serta dapat meracuni daun dan tunas muda tanaman kebun (Akinmoladun, 2007).

Melihat banyaknya khasiat dari tanaman kopasanda tersebut yang berguna bagi kesehatan. Sehingga pada dilakukan uji aktivitas antiproliferasi sel leukemia L1210

METODOLOGI PENELITIAN

Bahan

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah simplisia daun kopasanda (*Chromolaena odorata* L.), *n*-

heksan, etil asetat, etanol, sel leukemia L1210 dalam medium RPMI-1640, L-glutamin, NaHCO₃, *calf bovine serum*, *tryphan blue*, metanol, *aquabides*, kertas saring, tissue, aluminium foil.

Alat

Multi well plate tissue's, *haemocytometer neubauer improved*, mikroskop, dek gelas dan objek gelas, mikropipet, kapas.

Penyiapan Serbuk Simplisia

Daun Kopasanda (*Chromolaena odorata* L.) yang masih segar diambil dan dikumpulkan untuk kemudian dilakukan beberapa tahapan sebelum dibuat ekstrak, yaitu:

a. Pengambilan sampel

Pengambilan daun kopasanda dengan memilih daun kopasanda yang segar, masih tampak hijau tua. Pengambilan sampel dipilih pada waktu pagi hari.

b. Pencucian sampel

Pencucian dilakukan untuk menghilangkan tanah dan pengotor lainnya yang melekat pada bahan simplisia. Pencucian dilakukan dengan air bersih yang mengalir.

c. Perajangan

Perajangan bahan simplisia dilakukan untuk mempermudah proses pengeringan, dan penggilingan.

d. Pengeringan

Tujuan pengeringan ialah untuk mendapatkan simplisia yang tidak mudah rusak, sehingga dapat

disimpan dalam waktu yang lebih lama. Pengeringan daun kopasanda yaitu dengan cara dijemur tanpa sinar matahari atau di angin-anginkan.

e. Pembuatan serbuk simplisia

Pembuatan serbuk simplisia dilakukan dengan cara menghaluskan simplisia kering dengan menggunakan blender yang kemudian diayak.

Ekstraksi

Ekstraksi dilakukan secara bertahap mengikuti prosedur. Sejumlah 200 g serbuk daun kopasanda dimaserasi dengan *n*-heksan sambil diaduk, selama lebih kurang 5 jam. Maserat dibiarkan semalaman, kemudian diaduk kembali selama lebih kurang 4 jam. Maserat disaring, filtrat dipekatkan dalam rotavapor, ampas dimaserasi kembali dengan *n*-heksan dan dibiarkan semalaman dengan sesekali diaduk perlakuan diulang sebanyak 3 kali. Maserasi dengan *n*-heksan dihentikan. Maserat disaring, filtrat dipekatkan. Ampas dari maserat pertama *n*-heksan dimaserasi dengan etil asetat sambil diaduk, selama lebih kurang 5 jam. Maserat dibiarkan semalaman, kemudian diaduk kembali selama lebih kurang 4 jam. Maserat disaring, filtrat dipekatkan dalam rotavapor, ampas dimaserasi kembali dengan etil asetat dan dibiarkan semalaman dengan sesekali diaduk perlakuan diulang sebanyak 3 kali. Maserasi dengan etil asetat dihentikan.

Maserat disaring, filtrat dipekatkan. Ampas dari maserat kedua etil asetat dimaserasi dengan etanol sambil diaduk, selama lebih kurang 5 jam. Maserat dibiarkan semalaman, kemudian diaduk kembali selama lebih kurang 4 jam. Maserat disaring, filtrat dipekatkan dalam rotavapor, ampas dimaserasi kembali dengan etanol dan dibiarkan semalaman dengan sesekali diaduk perlakuan diulang sebanyak 3 kali. Maserasi dengan etanol dihentikan. Maserat disaring, filtrat dipekatkan. Ampas dari maserat ketiga etanol didestilasi dengan air. Kemudian saring dan dikeringkan.

.Uji Aktivitas Antikanker terhadap sel leukemia L1210

Dibuat media RPMI-1640 seberat 10,4 g yang mengandung L-glutamin dilarutkan dalam 1 L air steril (A). Kemudian 1,3 g NaHCO_3 dilarutkan ke dalam 50 ml air steril (larutan B). sebanyak 25 ml larutan B ditambahkan ke dalam 475 ml larutan A, sehingga didapat 500 ml untuk media (C). 15 ml calf bovine serum untuk ujinya ditambahkan ke dalam 85 ml larutan C dan semua perlakuan dilakukan di ruang steril. Media yang telah mengandung calf bovine serum tadi masukkan suspense sel leukemia L1210 sehingga berjumlah sel 2×10^5 sel/ml (Winarno, 2008).

Untuk pengujian aktivitas ekstrak pada penelitian ini menggunakan variasi dosis yaitu 5, 10, 20, 40, 80 $\mu\text{g/ml}$ dalam metanol. Media dan zat uji dimasukkan ke dalam multi *well plate tissue's culture* sehingga total volume 1 ml dalam setiap

sumuran. Adapun control yang digunakan adalah methanol 10 µL yang telah ditambahkan 990 µl suspense sel. Selanjutnya sel yang telah diisi zat uji diinkubasi selama 48 jam pada suhu 37°C dalam inkubator 5% CO₂ dan dilakukan pengulangan perlakuan triplo. Perhitungan sel menggunakan haemocytometer neubauer improved. Perhitungan, 90 µL suspense dimasukkan ke dalam sero cluster plate dan ditambah 10 µL larutan 1% tryphan blue lalu dihomogenkan sehingga dapat membedakan sel hidup dengan sel mati. Sebanyak 10 µL larutan dialirkan ke dalam haemocytometer neubauer improved kemudian dihitung sel yang hidup di bawah mikroskop.

Persentase (%) penghambatan berdasarkan rumus:

$$\frac{(\text{rerata sel kontrol}) - (\text{rerata sel sampel uji})}{(\text{rerata sel kontrol})}$$

Adapun perhitungan untuk nilai IC₅₀ adalah konsentrasi zat uji yang dapat menghambat pertumbuhan sel yaitu 50%, dihitung kurva regresi linier antara log konsentrasi zat uji dengan nilai probit aktivitas penghambatan. Menurut Mans, suatu ekstrak tanaman dikatakan aktif atau positif menghambat pertumbuhan sel pada uji proliferasi sebagai zat antikanker bila IC₅₀ ≤ 50 µg/mL (Mans, 2000). menurut national cancer institute (NCI) senyawa murni tergolong aktif

menghambat perkembangbiakan sel bila nilai IC₅₀ ≤ 4 µg/mL (Sumarny, 2006)

HASIL DAN PEMBAHASAN

Daun kopasanda yang diekstraksi secara bertahap diperoleh masing-masing ekstrak *n*-heksan sebanyak 14,94 g , ekstrak etil asetat sebanyak 39,4 g, ekstrak etanol sebanyak 40,2 g, dan ekstrak air sebanyak 35,68 g.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa bobot ekstrak terbesar adalah ekstrak etanol yang mungkin merupakan senyawa-senyawa semipolar, sedangkan senyawa-senyawa nono polar merupakan bagian yang paling kecil.

Selanjutnya, tiap-tiap ekstrak akan diuji aktivitas antiproliferasi sel leukemia L1210 secara in vitro dengan menentukan nilai IC₅₀ dengan menghitung kristal formazan yang berwarna ungu dimana pada metode ini memiliki ketepatan yang tinggi, mudah, cocok untuk tujuan skala besar, cepat, sensitive dan akurat. setelah pemberian larutan uji, sel diamati menggunakan mikroskop inverted, sel hidup berbentuk seperti jarum yang saling berdempet dengan sel lain yang berada disekitarnya dan menempel pada dasar sumuran. Sedangkan sel mati setelah diberi perlakuan berbentuk bulat dan cenderung tersebar

Tabel 1: Hasil perhitungan jumlah sel uji aktivitas antiproliferasi sel leukemia ekstrak

1. Ekstrak n-heksan

Dosis ($\mu\text{g/mL}$)	Jumlah sel hidup															Rata-rata jumlah sel x 10^5
	Simplo					Duplo					Triplo					
	Kotak ke					Kotak ke					Kotak ke					
	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	
Kontrol	6	8	7	6	7	8	6	6	8	5	3	6	6	7	6	15,83
5	4	3	5	3	5	3	5	4	4	4	5	4	4	5	3	10,17
10	3	4	3	3	4	4	3	2	5	2	5	3	3	3	3	8,33
20	3	3	2	4	2	3	4	2	3	3	4	3	2	3	3	7,33
40	3	2	3	2	1	3	2	2	2	3	3	3	2	3	2	6,00
80	2	2	2	1	2	2	2	1	1	2	2	3	1	1	2	4,33

2. Ekstrak etil asetat

Dosis ($\mu\text{g/mL}$)	Jumlah sel hidup															Rata-rata jumlah sel x 10^5
	Simplo					Duplo					Triplo					
	Kotak ke					Kotak ke					Kotak ke					
	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	
Kontrol	6	8	7	6	7	8	6	6	8	5	3	6	6	7	6	15,83
5	4	4	5	4	4	4	3	3	2	4	3	5	4	3	4	9,33
10	3	4	3	2	3	4	3	3	2	3	3	4	3	4	2	7,67
20	3	2	2	3	3	3	2	2	3	2	3	2	3	2	2	6,17
40	2	3	2	1	2	1	3	2	2	1	2	3	3	2	2	5,17
80	1	2	2	1	3	2	1	1	2	1	1	2	2	2	1	4,00

3. Ekstrak etanol

Dosis ($\mu\text{g/mL}$)	Jumlah sel hidup															Rata-rata jumlah sel x 10^5
	Simplo					Duplo					Triplo					
	Kotak ke					Kotak ke					Kotak ke					
	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	
Kontrol	6	8	7	6	7	8	6	6	8	5	3	6	6	7	6	15,83
5	4	3	5	4	4	4	4	5	4	5	4	3	4	3	4	10,00
10	5	3	3	4	3	4	2	3	4	3	3	4	3	3	4	8,50
20	3	3	2	3	3	3	2	3	3	2	3	2	3	3	3	6,83
40	2	3	3	2	3	3	3	3	2	2	2	3	1	2	3	6,17
80	2	1	3	2	2	2	2	2	3	1	2	3	0	2	0	4,50

4. Ekstrak air

Dosis ($\mu\text{g/mL}$)	Jumlah sel hidup															Rata-rata jumlah sel x 10^5
	Simplo					Duplo					Triplo					
	Kotak ke					Kotak ke					Kotak ke					
	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	
Kontrol	6	8	7	6	7	8	6	6	8	5	3	6	6	7	6	15,83
5	4	3	4	4	3	4	3	5	4	4	3	5	3	3	3	9,17
10	3	4	2	4	4	3	4	3	3	4	3	3	4	4	3	8,50
20	3	2	3	3	3	4	2	3	3	2	3	2	3	3	2	6,83
40	3	1	3	2	2	2	2	2	3	2	3	3	2	1	2	5,50
80	1	3	2	2	3	2	3	1	1	2	1	2	2	3	1	4,83

Tabel 2. Hasil Uji Aktivitas Antiproliferasi Sel Leukemia L1210 Ekstrak

No.	Sampel	Konsentrasi (µg/mL)	Log konsentrasi	% Inhibisi	Probit % inhibisi	Persamaan regresi linier	IC50 (µg/mL)
1.	Ekstrak n-heksan	0 (kontrol)	-	0	-	$y = 0,774x + 4,109$ $R^2 = 0,99263$	14,1645
		5	0,6990	35,79	4,64		
		10	1,0000	47,37	4,92		
		20	1,3010	53,68	5,10		
		40	1,6021	62,11	5,31		
		80	1,9031	72,63	5,61		
2.	Ekstrak etil asetat	0 (kontrol)	-	0	-	$y = 0,7275x + 4,2955$ $R^2 = 0,992$	9,2982
		5	0,6990	41,05	4,77		
		10	1,0000	51,58	5,05		
		20	1,3010	61,05	5,28		
		40	1,6021	67,37	5,44		
		80	1,9031	74,74	5,67		
3.	Ekstrak etanol	0 (kontrol)	-	0	-	$y = 0,7308x + 4,1712$ $R^2 = 0,98438$	13,6176
		5	0,6990	36,84	4,67		
		10	1,0000	46,32	4,90		
		20	1,3010	56,84	5,18		
		40	1,6021	61,05	5,28		
		80	1,9031	71,58	5,58		
4.	Ekstrak air	0 (kontrol)	-	0	-	$y = 0,6411x + 4,3239$ $R^2 = 0,98003$	11,3397
		5	0,6990	42,11	4,80		
		10	1,0000	46,32	4,90		
		20	1,3010	56,84	5,18		
		40	1,6021	65,26	5,39		
		80	1,9031	69,47	5,52		

Tabel 1, dengan kriteria yang sama untuk uji aktivitas *antiproliferasi* sel leukemia L1210 terhadap ke empat ekstrak secara *in vitro* menunjukkan bahwa nilai IC₅₀ ekstrak secara berturut-turut mulai dari nilai IC₅₀ terkecil sampai dengan yang terbesar yaitu ekstrak etil asetat sebesar 9,2982 µg/mL, ekstrak air sebesar 11,3397 µg/mL, ekstrak etanol sebesar 13,6176 µg/mL, dan ekstrak *n*-heksan sebesar 14,1645 µg/mL. Oleh karena itu keempat ekstrak tersebut dinyatakan aktif, meskipun ekstrak etanol dan *n*-heksan juga memiliki aktivitas *antiproliferasi* terhadap sel leukemia. Dilihat dari segi kelarutan polar, semi polar, dan non polar mempunyai

komponen sebagai aktivitas *antiproliferasi* sel leukemia L1210.

KESIMPULAN

Keempat ekstrak mempunyai aktivitas antiproliferasi terhadap sel leukemia L1210 yaitu *n*-heksan, etil asetat, etanol, dan air. Uji aktivitas *antiproliferasi* terhadap sel leukemia L1210 yang tertinggi dibandingkan dengan ekstrak yang lain adalah ekstrak etil asetat (IC₅₀ 9,2982 µg/mL). dan perlu melakukan uji lanjut terhadap isolat aktif murni

KEPUSTAKAAN

- Akinmoladun, Afolabi C., Ibukun, E.O., Dan-Ologe, I.A. *Phytochemical Constituents and Antioxidant Properties of Extracts from the Leaves Of Chromolaena odorata*, scientific Research and Essay Volume 2.2007
- Anderson, R. N. *Deaths: Leading Causes for 1999*. National Vital Statistics Reports.
- Benjamin, VT. *Phytochemical and Antibacterial Studies on The Essential Oil of Eupatorium Odorum*. Pharmaceutical Biology. 2011
- Kimball, J. W. *Biologi*. Terjemahan oleh Hj. Siti Soetarmi Tjitrosoepomo dan Nawangsari Sugiri. Jakarta: Erlangga. 1983.
- Mans DR, Rocha AB, Schwartzmann G. Anti-cancer drug discovery and development in Brazil: Targeted plant collection as a rational strategy to acquire candidate anti-cancer compounds, *Oncologist* 2000; 5, 185-198
- Ngozi, Igboh M., Jude, Ikewuchi C. and Catherine, Ikewuchi C. *Chemical Profile of Chromolaena odorata L. (King and Robinson) Leaves*. Pakistan Journal of Nutrition 8, 2009.
- Prawiradiputra, Bambang R. 2007. *Ki Rinyuh (Chromolaena odorata (L.) R. M. King & H. Robinson): Gulma Padang Rumput Yang Merugikan*. Bogor: Balai Penelitian Ternak.
- Sipayung, A., R.D. De Chenon And P.S. Sudharto. *Observations on Chromolaena odorata (L.) R.M. King and H. Robinson in Indonesia. Second International Workshop on the Biological Control and Management of Chromolaena odorata*. Biotrop, Bogor. 1991.
- Sumarny R. Karakterisasi kimiawi, aktivitas antiproliferasi sel lestari tumor dan aktivitas fagositosis secara in vitro dari fraksi bioaktif rimpang temu putih (*Cuercuma zedoria* (Christm) Roscoe), Institut Pertanian Bogor
- Thamrin, M. dan Asikin, S., *Potensi gulma rawa sebagai bahan attraktan terhadap penggerek batang padi putih (Scirpophaga innotata)*. Prosiding Seminar Nasional XVIII. Himpunan Ilmu Gulma Indonesia dan Fakultas Pertanian Universitas Mulawarman. 2007
- Winarno H dan Katrin E. aktivitas sitotoksik fraksi-fraksi ekstrak etil asetat kulit batang mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa* (Scheff.) Boerl) terhadap sel aknker manusia. *Majalah Obat Tradisional* 2008; 13 (45) hal 120-127