# STUDI AKTIVITAS SITOTOKSIK EKSTRAK DAN FRAKSI DAUN PATINDIS (*Urophyllum arboreum* (Reinw. ex Blume) Korth.) TERHADAP SEL KANKER PAYUDARA MCF-7 DENGAN METODE *PRESTOBLUE ASSAY*

**Pinus Jumaryatno[1*], Muhammad Hafizh Abiyyu Fathin Fawwazi[2], Arba Pramundita Ramadani[1]**

[1]*Jurusan Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Islam Indonesia, Yogyakarta*

[2]*Program Studi Magister, Jurusan Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Islam Indonesia, Yogyakarta*

*Email: *pinus.jumaryatno@uii.ac.id*

## ABSTRAK

Kanker payudara merupakan salah satu jenis kanker penyebab kematian wanita dengan prevalensi tinggi di dunia, termasuk Indonesia. Peningkatan angka kejadian kasus kanker payudara dan permasalahan terapi pengobatan kanker seperti adanya efek samping yang merugikan dan *multi drug resistance* mendorong pencarian agen sitotoksik baru untuk dikembangkan sebagai kandidat agen terapi antikanker. Daun Patindis (*Urophyllum arboreum*) merupakan salah satu bahan alam yang telah digunakan secara tradisional oleh masyarakat Dayak Terantang untuk pengobatan. Kulit batang Patindis dilaporkan memiliki aktivitas sitotoksik dan antioksidan, sedangkan penelitian pendahuluan menunjukkan bahwa ekstrak etanol 70% daun Patindis memiliki aktivitas antioksidan dengan $IC_{50}$ sebesar 6,5 ppm. Antioksidan merupakan senyawa yang mampu menetralisir radikal bebas sehingga mencegah kerusakan sel dan menurunkan resiko terjadinya kanker. Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk mengkaji potensi sitotoksisitas ekstrak dan fraksi daun Patindis terhadap sel kanker payudara MCF-7. Ekstrak daun Patindis diperoleh dengan metode *Ultrasound Assisted Extraction* menggunakan etanol 70% sedangkan fraksi daun Patindis diperoleh melalui ekstraksi cair-cair menggunakan n-heksan, etil asetat dan etanol 96%-air. Aktivitas sitotoksik ekstrak dan fraksi dievaluasi dengan metode *PrestoBlue assay* terhadap sel kanker payudara MCF-7 dan data yang diperoleh dianalisis dengan *Microsoft Excel* 2016. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak etanol 70%, fraksi n-heksan, fraksi etil asetat dan fraksi etanol 96%-air memiliki nilai $IC_{50}$ masing-masing sebesar 136,370 µg/ml; 114,400 µg/ml; 87,340 µg/mL dan 610,245 µg/mL. Berdasarkan hasil tersebut maka dapat disimpulkan bahwa fraksi etil asetat merupakan fraksi paling aktif dengan aktivitas sitotoksik sedang sehingga mempunyai potensi untuk dikembangkan lebih lanjut sebagai kandidat agen terapi kanker payudara.

*Kata kunci : Patindis, sitotoksik, MCF-7, fraksi etil asetat, PrestoBlue assay*

## *ABSTRACT*

*Breast cancer is one type of cancer that causes death in women with a high prevalence in the world, including Indonesia. The increasing incidence of breast cancer cases and the problems of cancer treatment therapy such as the presence of adverse side effects and multi-drug resistance encourage the search for new cytotoxic agents to be developed as candidates for anticancer therapeutic agents. Patindis (Urophyllum arboreum) leaves is one of natural ingredients that has been used traditionally by Dayak Terantang community for medicine. Patindis bark was reported to have cytotoxic and antioxidant activity, while preliminary research showed that 70% ethanol extract of Patindis leaves had antioxidant activity with $IC_{50}$ value of 6.5 ppm. Antioxidants are*

*compounds that are able to neutralize free radicals so as to prevent cell damage and reduce the risk of cancer. Therefore, this study aimed to evaluate the potential cytotoxicity of extract and fractions of Patindis leaves against MCF-7 cell line. Patindis leaves extract was obtained by Ultrasound Assisted Extraction method using 70% ethanol while the fractions were obtained by liquid-liquid extraction using n-hexane, ethyl acetate and ethanol 96%-water. The cytotoxic activity of extract and fractions were evaluated by PrestoBlue assay method against MCF-7 cell line and the data obtained were analyzed using Microsoft Excel 2016. The results showed that 70% ethanol extract, n-hexane fraction, ethyl acetate fraction and ethanol fraction 96%- water have $IC_{50}$ values of 136.370 g/ml, 114.400 g/ml, 87.340 g/mL and 610.245 g/mL, respectively. Based on these results, it can be concluded that the ethyl acetate fraction was the most active fraction with moderate cytotoxic activity so that it has the potential to be further developed as a candidate for breast cancer therapy.*

*Keywords : Patindis, cytotoxic, MCF-7, ethyl acetate fraction, PrestoBlue assay*

## PENDAHULUAN

Kanker merupakan penyebab kematian kedua dan bertanggung jawab atas kematian sekitar 9,6 juta penduduk di dunia pada tahun 2018 (World Health Organization, 2018). Berdasarkan data Riset Kesehatan Dasar 2018 Kementerian Kesehatan Republik Indonesia, prevalensi kanker di Indonesia menunjukkan adanya peningkatan dari 1,4 per seribu penduduk pada tahun 2013 menjadi 1,79 per seribu penduduk pada tahun 2018 dengan angka tertinggi berada di propinsi Daerah Istimewa Yogyakarta sebesar 4,86 per seribu penduduk (Kementerian Kesehatan Republik Indonesia, 2019). Lebih lanjut, berdasarkan data GLOBOCAN angka kejadian kanker payudara di Indonesia menempati posisi pertama yaitu 42,1 per 100.000 penduduk dengan rata-rata kematian 17 per 100.000 penduduk (Bray *et al*., 2018). Dengan demikian, kanker payudara merupakan permasalahan serius yang dihadapi oleh Indonesia. Penggunaan berbagai macam obat pada penatalaksanaan terapi kanker secara kemoterapi seringkali menimbulkan efek samping yang tidak diinginkan dan merugikan pasien serta mengakibatkan adanya *multi drug resistance* (American Cancer Society, 2016; AbuHammad and Zihlif, 2013), sehingga agen terapi kanker yang memiliki potensi lebih baik dengan efek samping yang minimal masih sangat diperlukan.

Tumbuhan merupakan salah satu sumber potensial yang dapat dikembangkan sebagai bahan obat dikarenakan kandungan senyawa kimianya memiliki berbagai macam aktivitas farmakologis yang bermanfaat untuk pencegahan dan penyembuhan penyakit termasuk kanker (Newman and Cragg, 2016). Patindis (*Urophyllum arboreum*) adalah salah satu tumbuhan yang berasal dari Kalimantan Tengah dan daunnya secara tradisional telah digunakan oleh masyarakat desa Terantang, Sampit, Kalimantan Tengah untuk pengobatan luka dan gatal-gatal. Hasil penelitian terdahulu memperlihatkan adanya aktivitas antioksidan dari ekstrak etanol kulit


ISSN: 2963-2277

batang Patindis dan memiliki aktivitas sitotoksik terhadap *Artemia salina* dengan $LC_{50}$ sebesar 322,38 µg/ml (Saefudin dan Basri, 2016). Lebih lanjut, pada penelitian pendahuluan terhadap ekstrak etanol 70% daun Patindis menunjukkan adanya aktivitas antioksidan yang kuat dengan $IC_{50}$ sebesar 6,5 ppm (Laboratorium Sentral, 2019). Berdasarkan studi yang dilakukan oleh Baldivia *et al*. (2018), aktivitas antioksidan yang tinggi pada suatu tumbuhan efektif untuk menghambat pertumbuhan sel kanker melalui proses penangkapan radikal bebas dan induksi apoptosis sel kanker (Baldivia *et al*., 2018). Hal ini menunjukkan bahwa Patindis memiliki potensi untuk dikembangkan sebagai kandidat agen terapi pada pengobatan penyakit kanker. Namun sampai saat ini belum ada investigasi secara komprehensif berkaitan dengan aktivitas antikanker dari daun Patindis, khususnya terhadap kanker payudara. Oleh karenanya, dalam penelitian ini dilakukan pengkajian potensi daun Patindis sebagai antikanker payudara dengan melakukan evaluasi aktivitas sitotoksik daun Patindis berupa ekstrak dan fraksi terhadap sel kanker payudara MCF-7 menggunakan metode *PrestoBlue assay* secara *in vitro*.

## METODE PENELITIAN

### Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah alat-alat gelas, lemari pendingin (4°C), *Biological Safety Cabinet Class* II (JSR), timbangan analitik (OHAUS 214), mikropipet (Eppendorf dan Dragon), S1 Pipette Fillers (Thermo Scientific) corong pisah (Iwaki), labu ukur (Iwaki), *vacuum buchner*, *rotary evaporator* (Heidolph L400), mikroskop *inverted* (EVOS XL Core), hemasitometer (Bright-Line), inkubator $CO_2$ (Thermo Scientific), tangki nitrogen cair, *freezer* (Wisd (-86°C)), sonikator (Branson 2510), *multimode reader* (TECAN Infinite M200 Pro), blender (Philips), *centrifuge* (Thermo Scientific), rak tabung, *conical tube* (Nest), *cryotube* (Nest), *serological pipette* (Nest), 96-*well microplate* (Nest), *blue tip*, *yellow tip*, *plastic wrap*, *microtube*, kertas saring dan aluminium foil.

### Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun patindis (*Urophyllum arboreum*), sel MCF-7 yang diperoleh dari stok Laboratorium Sentral Universitas Padjadjaran, air, etanol teknis 70% (Brataco), etanol 96% (teknis), etil asetat (teknis), n-heksan (teknis), *PrestoBlue reagent* (Invitrogen™), $Na_2SO_4$ anhidrat, media *Roswell Park Memorial Institute*-1640 (RPMI-1640) (Gibco), Penisilin-Streptomisin (Gibco), *Fetal Bovine Serum* (FBS), *Dimethyl sulfoxide* (DMSO), *Phosphate Buffer Saline* (PBS (Gibco)), tripsin-EDTA (Gibco), *trypan blue* (Gibco), dan cisplatin.

***Ethical Clearance***

Protokol penelitian uji aktivitas sitotoksik ekstrak dan fraksi daun Patindis telah disetujui oleh komite Etik Fakultas Kedokteran Universitas Islam Indonesia dengan surat keterangan nomor 23/Ka.Kom.Et/70/KE/VI/2020.

**Pengumpulan Bahan dan Identifikasi**

Daun diperoleh dari tumbuhan Patindis yang tumbuh di desa Terantang, Sampit, Kalimantan Tengah pada bulan Juni 2019. Tumbuhan Patindis dideterminasi untuk mengidentifikasi kebenarannya oleh Dr. Joko Santoso di Departemen Biologi Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Gadjah Mada (surat keterangan nomor 44.1.7/UN1/FFA/BF/PT/2019).

**Ekstraksi Daun Patindis**

Serbuk daun Patindis (*Urophyllum arboreum)* seberat 400 g dimaserasi menggunakan pelarut etanol 70% (1:10) dengan metode *Ultrasound Assisted Extraction* pada suhu 40°C selama 30 menit dengan kekuatan 20 kHz. Proses maserasi dilakukan sebanyak tiga kali. Setelah dilakukan penyaringan ekstrak cair dari hasil maserasi menggunakan *vacuum buchner*, ekstrak cair tersebut diuapkan dengan menggunakan *rotary evaporator* hingga diperoleh ekstrak kering etanol 70%. Selanjutnya ekstrak kering yang diperoleh ditimbang dan disimpan di lemari pendingin pada suhu 4°C.

**Fraksinasi Ekstrak Etanol 70% Daun Patindis**

Sebanyak 2 gram ekstrak kering etanol 70% daun Patindis dilarutkan menggunakan etanol 96%-air (1:2) kemudian dimasukkan ke dalam corong pisah dan ditambahkan 100 mL n-heksan untuk dilakukan ekstraksi cair-cair. Setelah dilakukan proses penggojogan dan pendiaman, lapisan n-heksan yang terbentuk dipisahkan dari lapisan etanol 96%-air sehingga diperoleh fraksi n-heksan dan fraksi etanol 96%-air. Kemudian fraksi etanol 96%-air difraksinasi kembali menggunakan 100 mL etil asetat dalam corong pisah dengan cara yang sama seperti pada fraksinasi menggunakan n-heksan untuk menghasilkan fraksi etil asetat. Selanjutnya fraksi n-heksan dan fraksi etil asetat yang diperoleh ditambah dengan $Na_2SO_4$ anhidrat untuk menghilangkan sisa-sisa air yang masih terdapat dalam fraksi tersebut. Kemudian fraksi n-heksan, etil asetat dan etanol 96%-air diuapkan menggunakan *rotary evaporator* hingga didapatkan fraksi kental n-heksan, fraksi kering etil asetat dan fraksi kering etanol 96%-air. Seluruh fraksi yang diperoleh ditimbang dan disimpan dalam lemari pendingin pada suhu 4°C.


ISSN: 2963-2277

**Uji Aktivitas Sitotoksik Ekstrak dan Fraksi Daun Patindis.**

Pengujian aktivitas sitotoksik ekstrak dan fraksi daun Patindis pada penelitian ini dilakukan dengan mengikuti protokol kerja Laboratorium Sentral Universitas Padjajaran, Divisi Aktivitas Biologi (Kultur Sel). Seluruh prosedur kerja pengujian sitotoksik dilakukan secara aseptis di *Biological Safety Cabinet Class* II Laboratorium Sentral Universitas Padjadjaran.

Sel MCF-7 diperoleh dari ATCC (*American Type Cell Cancer*), koleksi dari Divisi Aktivitas Biologi di Laboratorium Sentral Universitas Padjajaran. Media kultur yang digunakan adalah media kultur cair *Roswell Park Memorial Institute Medium* (RPMI-1640) komplit (mengandung *Fetal Bovine Serum* 10% dan Penisilin-Streptomisin 1%,). Cisplatin digunakan sebagai kontrol positif. Kultur sel dilakukan menggunakan *96-well microplate*. Sampel uji dibuat dalam seri kadar 1000; 500; 250; 125; 62,5; 31,25; 15,625 dan 7,815 ppm dengan pelarut DMSO 2%. Sel yang digunakan harus mencapai konfluen 70-80%. Kultur sel yang telah dimasukkan ke dalam *96-well microplate* diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C dan 5% gas $CO_2$.

Pemaparan pada sel MCF-7 dilakukan dengan mengambil *96-well microplate* yang berisi sel dari inkubator $CO_2$ 5%, kemudian diamati kondisi morfologi sel di bawah mikroskop EVOS XL Core. Apabila sel sudah siap untuk diberikan perlakuan dibuang media kultur dan *96-well microplate* dicuci menggunakan *Phosphate Buffered Saline* (PBS) sebanyak 100 µl ke dalam masing-masing sumuran. Selanjutnya dimasukkan masing-masing sebanyak 100 µl seri kadar sampel uji, kontrol blanko (PBS), kontrol media, kontrol pelarut (DMSO 2%) dan kontrol positif (cisplatin) ke dalam masing-masing sumuran. Kemudian *96-well microplate* diinkubasi di dalam inkubator $CO_2$ 5% dengan suhu 37°C selama 24 dan 48 jam.

Pada masing-masing sumuran *96 well-microplate* berisi kultur sel yang telah diinkubasi dan diberi label ditambah 100 µL seri kadar sampel uji (perlakuan), kontrol positif (cisplatin) dan kontrol pelarut (DMSO 2%), kontrol media (RPMI-1640) dan blanko (PBS). Kemudian 96-*well microplate* yang telah diberi perlakuan diinkubasi menggunakan inkubator $CO_2$ 5% dengan suhu 37°C dan diamati setiap 24 dan 48 jam.

Pengujian sitotoksik menggunakan metode *PrestoBlue assay* dilakukan setelah proses inkubasi sel (kontrol positif, seri kadar perlakuan dan kontrol pelarut, kontrol media dan blanko) selesai pada jam ke 24 dan 48. Tahap awal yaitu media pada setiap sumuran *microplate* dibuang dan dicuci menggunakan PBS 50 µL. Kemudian disiapkan larutan campuran yang terdiri dari 9,9 mL media dan 1,1 mL reagen *PrestoBlue* di dalam *conical tube* 50 mL. Selanjutnya pada masing-masing 96-*well microplate* ditambah 100 µL larutan campuran yang telah dibuat dan

diinkubasi 2 jam pada inkubator $CO_2$ hingga terjadi perubahan warna. Setiap sumuran diukur absorbansinya setelah 2 jam lamanya diinkubasi pada panjang gelombang 570 nm (referensi: 600 nm) menggunakan *multimode reader*.

**Analisa Hasil**

Analisa secara kualitatif dilakukan dengan pengamatan morfologi sel MCF-7 pada jam 24 dan 48 dengan membandingkan morfologi sel pada masing-masing seri kadar dan kontrol (positif, pelarut, media dan blanko) dan morfologi sel sebelum diberi perlakuan serta membandingkan morfologi sel yang diberi larutan seri kadar dengan morfologi sel yang diberi larutan kontrol. Hal ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemaparan ekstrak etanol 70%, fraksi n-heksan, fraksi etil asetat dan fraksi etanol 96%-air daun Patindis terhadap sel MCF-7.

Analisa secara kuantitatif dilakukan dengan penentuan nilai $IC_{50}$. Data hasil absorbansi dari pembacaan menggunakan *multimode reader* digunakan untuk menentukan persentase sel hidup dari sel MCF-7. Tahap selanjutnya data hasil persentase sel hidup digunakan untuk menghitung nilai $IC_{50}$ menggunakan aplikasi *Microsoft Excel* 2016. Analisis nilai $IC_{50}$ dilakukan untuk menentukan konsentrasi sampel yang menghambat 50% pertumbuhan sel. Berikut persamaan yang digunakan untuk menghitung persentase sel hidup:

$$\text{Sel Hidup (\%)} = \frac{\text{Absorbansi Perlakuan-Absorbansi Kontrol Media}}{\text{Absorbansi Kontrol Sel-AbsorbansiKontrol Media}} \text{ x } 100\%$$

Nilai $IC_{50}$ yang diperoleh akan dibandingkan dengan nilai $IC_{50}$ yang telah ditetapkan oleh *World Health Organization* seperti terlihat pada **Tabel 1**.

Tabel 1. Klasifikasi Nilai $IC_{50}$ (World Health Organization, 2019)

| **Nilai $IC_{50}$ (µg /mL)** | **Klasifikasi Sitotoksik** |
|---|---|
| $IC_{50}$ > 90 | *Not cytotoxic* |
| $IC_{50}$ 2-89 | *Moderate* |
| $IC_{50}$ < 2 | *Cytotoxic* |

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Ekstraksi dan Fraksinasi Daun Patindis

Proses ekstraksi daun Patindis pada penelitian ini dilakukan dengan menggunakan metode *Ultrasound Assisted Extraction* dan pelarut etanol 70%. Hasil dari serangkaian proses ekstraksi serbuk daun Patindis berupa ekstrak kering yang secara organoleptis berwarna coklat


ISSN: 2963-2277

tua kehitaman dengan aroma khas. Bobot ekstrak kering yang diperoleh sebesar 104,8228 gram dan persen rendemen sebesar 26,2057%.

Metode ekstraksi cair-cair secara bertingkat digunakan dalam proses fraksinasi ekstrak kering etanol 70% daun Patindis dengan pelarut n-heksan, etil asetat dan etanol 96%-air yang menghasilkan fraksi n-heksan, fraksi etil asetat dan fraksi etanol 96%-air. Secara organoleptis, fraksi n-heksan yang diperoleh berwarna hijau tua dan kental, kemudian fraksi etil asetat berwarna coklat tua dan berwujud fraksi kering sedangkan fraksi etanol 96%-air berwarna coklat muda dan berbentuk kering dengan aroma yang khas untuk masing-masing fraksi. Bobot dan rendemen dari masing-masing fraksi dapat dilihat pada **Tabel 2**.

Tabel 2. Hasil Ekstraksi dan Fraksinasi Daun Patindis

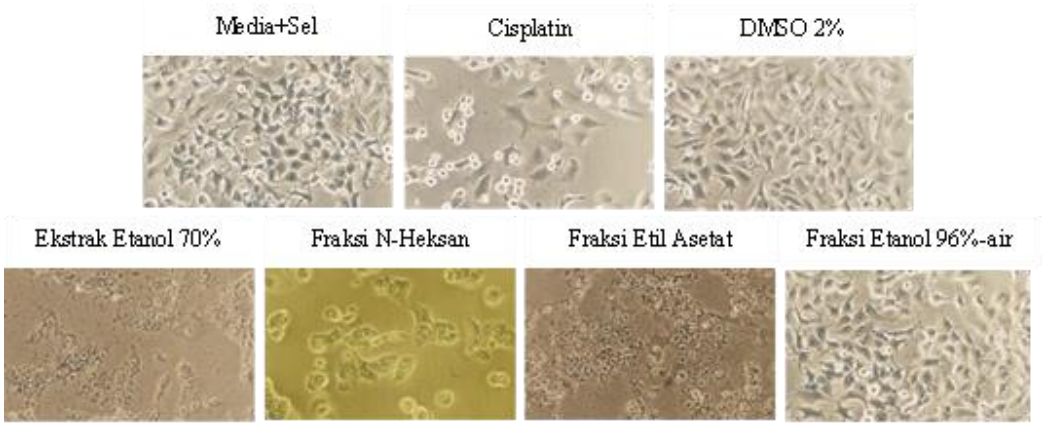
| Sampel | Organoleptis | Bobot (Gram) | Rendemen Sampel (% b/b) |
|---|---|---|---|
| Ekstrak Etanol 70% | Coklat tua Kehitaman | 104,8228 | 26,2057 |
| Fraksi n-Heksan | Hijau Tua | 0,967 | 2,4165 |
| Fraksi Etil Asetat | Coklat Tua | 26,636 | 66,59 |
| Fraksi Etanol 96%-Air | Coklat Muda | 3,0734 | 7,6835 |

**Uji Aktivitas Sitotoksik Ekstrak dan Fraksi Daun Patindis terhadap Sel MCF-7**

Pada penelitian ini, uji aktivitas sitotoksik ekstrak dan fraksi daun patindis terhadap sel MCF-7 dilakukan dengan metode *PrestoBlue Assay*. Sampel uji yang digunakan berupa ekstrak etanol 70%, fraksi n-heksan, etil asetat dan etanol 96%-air dengan berbagai seri kadar (1000; 500; 250; 125; 62,5; 31,25; 15,625 dan 7,815 ppm).

**1. Pengamatan Morfologi Sel MCF-7 Pasca Pemaparan Sampel Uji**

Adanya pengaruh pemaparan ekstrak dan fraksi daun Patindis terhadap sel MCF-7 dievaluasi secara kualitatif dengan mengamati ada tidaknya perubahan morfologi sel MCF-7 setelah diinkubasi selama 24-48 jam. Pengamatan morfologi sel MCF-7 dilakukan pada sumuran yang berisi media+sel dan yang diberi perlakuan dengan cisplatin (kontrol positif), DMSO 2% (kontrol pelarut) serta sampel uji (ekstrak etanol 70%, fraksi n-heksan, fraksi etil asetat dan fraksi etanol 96%-air).



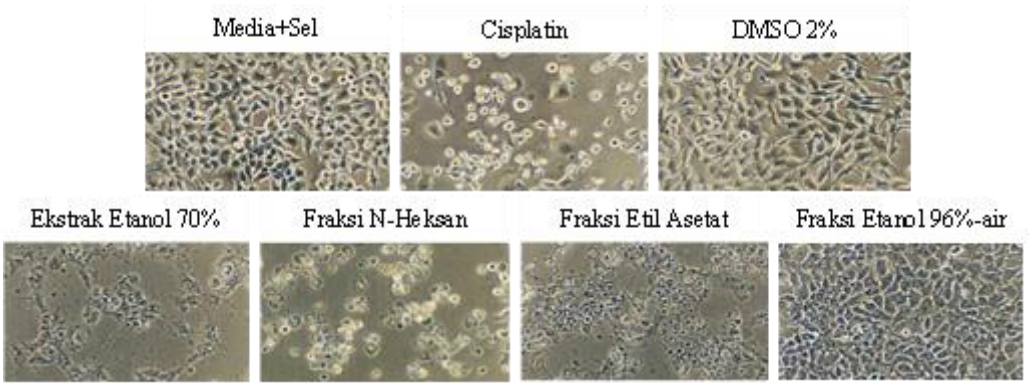

Gambar 1. Morfologi Sel MCF-7 Kontrol Media+Sel dan Pasca Perlakuan dengan Cisplatin, DMSO 2% serta Sampel Uji pada Jam ke-24 dengan Konsentrasi 250 ppm

Hasil pengamatan setelah 24 jam memperlihatkan bahwa sel MCF-7 pada sumuran yang tidak diberi perlakuan (media+sel) tidak mengalami perubahan morfologi sel dengan teramatinya karakteristik sel MCF-7 yang menyerupai sel epitel berbentuk kubah bulat tidak beraturan, tersusun padat dan rapat. Sementara itu, pada sumuran yang diberi perlakuan dengan DMSO 2% juga memperlihatkan tidak terjadinya perubahan morfologi sel karena sel yang teramati memiliki karakteristik yang sama dengan sel MCF-7 tanpa perlakuan (media+sel). Hasil ini sesuai dengan studi lain yang melaporkan bahwa konsentrasi DMSO ≤ 2% tidak akan memberikan efek toksik terhadap sel kanker (*inert*) (Setiawati, 2014). Perubahan morfologi sel MCF-7 terlihat pada sumuran 24 jam setelah pemaparan cisplatin dan sampel uji (ekstrak kering etanol 70%, fraksi n-heksan dan fraksi etil asetat daun Patindis) yang ditandai dengan pengkerutan sel serta berkurangnya jumlah viabilitas sel dengan teramatinya penurunan kepadatan dan melayangnya sel di permukaan sumuran (**Gambar 1**). Hal ini mengindikasikan terjadinya kematian sel yang disebabkan oleh pemaparan cisplatin, ekstrak etanol 70%, fraksi n-heksan dan fraksi etil asetat daun Patindis. Sedangkan pada sumuran yang diberi perlakuan dengan fraksi etanol 96%-air tidak mengalami perubahan morfologi sel terutama pada sumuran yang diberi konsentrasi sampel yang rendah.

Lebih lanjut, setelah 48 jam pemaparan fraksi etanol 96%-air tidak mengakibatkan terjadinya perubahan morfologi sel MCF-7 karena menunjukkan morfologi sel yang tidak jauh berbeda dengan hasil pemaparan pada jam ke-24. Sedangkan sel MCF-7 pada sumuran yang diberi paparan cisplatin dan sampel uji berupa ekstrak etanol 70%, fraksi n-heksan dan fraksi etil asetat daun Patindis memperlihatkan adanya perubahan morfologi sel yang lebih nyata jika dibandingkan dengan hasil pengamatan pada jam ke-24 sejalan dengan peningkatan konsentrasi


ISSN: 2963-2277

sampel uji. Perubahan morfologi sel MCF-7 ditandai dengan mengkerutnya sel, penurunan kepadatan sel dan terlepasnya sel dasar sumuran/melayang (**Gambar 2**).

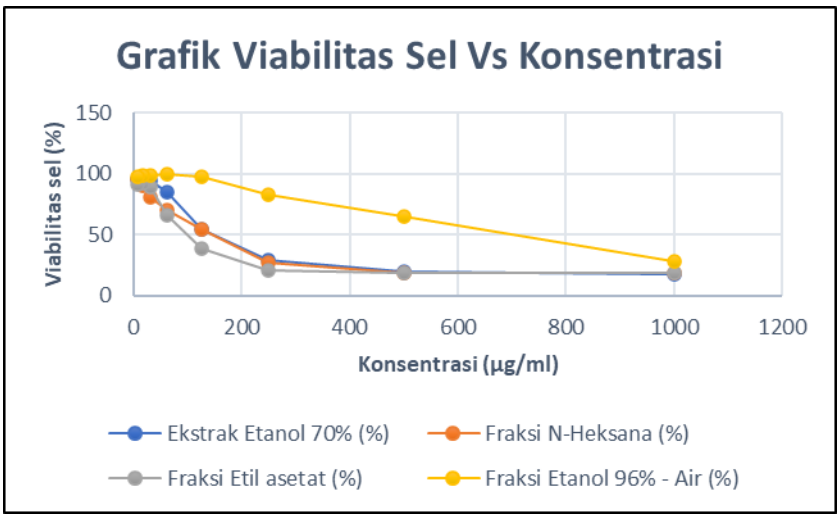



Gambar 2. Morfologi Sel MCF-7 Kontrol Media+Sel dan Pasca Perlakuan dengan Cisplatin, DMSO 2% serta Sampel Uji pada Jam ke-48 dengan Konsentrasi 250 ppm

Berdasarkan hasil pengamatan morfologi sel MCF-7 memperlihatkan bahwa fraksi etanol 96%-air tidak memiliki efek sitotoksik terhadap sel MCF-7 karena tidak memberikan perubahan morfologi sel. Sedangkan pemaparan dengan ekstrak etanol 70%, fraksi n-heksan dan fraksi etil asetat daun Patindis memperlihatkan adanya efek sitotoksik terhadap sel MCF-7 yang ditandai oleh adanya perubahan morfologi sel yang mengarah pada ciri-ciri kematian sel. Adanya induksi apoptosis dan penghambatan proliferasi sel diduga sebagai penyebab efek sitotoksik tersebut yang mengakibatkan sel mengalami kematian. Dugaan ini didukung oleh studi terdahulu yang melaporkan bahwa perubahan morfologi sel berkaitan dengan penurunan proliferasi dan peningkatan apoptosis sel, tergantung lama waktu dan konsentrasi sampel yang dipaparkan (Rachmawati *et al*., 2012).

**2. Aktivitas Sitotoksik Ekstrak dan Fraksi Daun Patindis**

Kekuatan efek sitotoksik pada uji aktivitas sitotoksik ekstrak dan fraksi daun Patindis dipastikan dengan melakukan analisis secara kuantitatif terhadap nilai absorbansi sel MCF-7 yang diperoleh dari hasil pembacaan menggunakan *multimode reader* pada masing-masing sumuran dan terinput secara otomatis pada program *Microsoft Excel*. Nilai absorbansi yang diperoleh sangat dipengaruhi oleh perubahan warna reagen *PrestoBlue*, semakin banyak senyawa resorufin (semakin pekat intensitas warna merah muda) maka nilai absorbansi akan semakin besar (Csepregi *et al*., 2018). Hasil analisis nilai absorbansi berupa persen viabilitas sel dan nilai $IC_{50}$ digunakan sebagai dasar untuk mengevaluasi aktivitas sitotoksik ekstrak dan fraksi daun Patindis terhadap sel MCF-7.




Gambar 3. Grafik Viabilitas Sel vs Konsentrasi

Berdasarkan data grafik viabilitas sel vs konsentrasi yang tersaji pada **Gambar 3** menunjukkan bahwa pemaparan ekstrak etanol 70%, fraksi n-heksan, fraksi etil asetat dan fraksi etanol96%-air daun Patindis dengan berbagai konsentrasi berpengaruh terhadap proses pembelahan/pertumbuhan sel MCF-7 yang dinyatakan sebagai persen viabilitas sel. Semakin besar konsentrasi ekstrak dan fraksi yang dipaparkan terhadap sel MCF-7 maka akan meningkatkan efek kematian sel sehingga persen viabilitas sel menurun. Begitupun sebaliknya, semakin kecil konsentrasi sampel yang dipaparkan akan meningkatkan persen viabiltas sel. Dari hasil penelitian (**Gambar 3**) memperlihatkan bahwa penurunan persen viabilitas yang paling besar terjadi pada sel MCF-7 yang terpapar fraksi etil asetat disusul dengan fraksi n-heksan, ekstrak etanol 70% dan fraksi etanol 96%-air daun Patindis.

Sementara itu, penentuan nilai $IC_{50}$ dilakukan dengan menggunakan persamaan regresi linear antara *corrected absorbance* dan konsentrasi sampel uji. Hasil analisis pengujian pertama menunjukkan bahwa perlakuan dengan ekstrak etanol 70% daun Patindis menghasilkan persamaan regresi linear Y= -0,0025x + 0,4682 dan nilai r = 0,9976. Sedangkan pada perlakuan dengan menggunakan fraksi n-heksan, fraksi etil asetat dan fraksi etanol 96%-air daun Patindis berturut-turut menghasilkan persamaan regresi Y= -0.0017x + 0,4086 (r= 0,9946); Y= -0,003x + 0,4648 (r= 0,9901) dan Y= -0,0004 + 0,5289 (r= 0,9922). Adapun hasil analisis pengujian kedua menghasilkan persamaan regresi linear pada masing-masing sampel uji (ekstrak etanol 70%, fraksi n-heksan, fraksi etil asetat dan fraksi etanol 96%-air) secara berturut-turut yaitu Y= -0,0024 + 0,6999 (r= 0,9884); Y= -0,0025 + 0,5562 (r= 0,9717); Y= -0,004 + 0,6706 (r= 0,9831). Nilai r yang diperoleh lebih besar daripada nilai $r^2$ sehingga dapat digunakan untuk penentuan $IC_{50}$. Selain itu, nilai r yang diperoleh secara keseluruhan mendekati 1 yang


ISSN: 2963-2277

menjelaskan bahwa persamaan tersebut adalah linier dan adanya hubungan antara konsentrasi dan *corrected absorbance*.

Berdasarkan nilai $IC_{50}$ yang diperoleh (**Tabel 3**) memperlihatkan bahwa ekstrak etanol 70% (136,370 µg/ml), fraksi n-heksan (114,400 µg/ml), dan fraksi etanol 96%-air (610,245 µg/ml) daun Patindis tidak memiliki aktivitas sitotoksik (*not cytotoxic*) terhadap sel MCF-7. Hal ini dikarenakan nilai $IC_{50}$ yang diperoleh >90 µg/mL. Sedangkan untuk fraksi etil asetat memiliki aktivitas sitotoksik kategori sedang (*moderate*) dengan nilai $IC_{50}$ 87,340 µg/mL.

Tabel 3. Nilai $IC_{50}$ Uji Sitotoksisitas Ekstrak dan Fraksi Daun Patindis terhadap Sel MCF-7

| **Sampel Uji** | **$IC_{50}$ Sel MCF-7 (µg/mL)** | | | **Klasifikasi Sitotoksik*** |
|---|---|---|---|---|
| | **Uji Ke 1** | **Uji Ke-2** | **Rata-rata ± SD** | |
| Ekstrak Etanol 70% | 103,35 | 169,39 | 136,370 ± 46,697 | *Not cytotoxic* |
| Fraksi n-Heksan | 117,65 | 111,15 | 114,400 ± 4,596 | *Not cytotoxic* |
| Fraksi Etil asetat | 80,48 | 94,20 | 87,340 ± 9,702 | *Moderate* |
| Fraksi Etanol 96%-Air | 801,87 | 418,62 | 601,245 ± 270,999 | *Not cytotoxic* |

**Dikutip dari Data Klasifikasi Aktivitas Sitotoksik (World Health Organization, 2019)*

Pada penelitian ini, cisplatin dengan dosis sebesar 53 µM digunakan sebagai kontrol positif dan menghasilkan nilai $IC_{50}$ sebesar 15,901 µg/ml sehingga aktivitas sitotoksiknya termasuk dalam kategori sedang (*moderate*) (World Health Organization, 2019). Hal ini memperlihatkan bahwa fraksi etil asetat memiliki potensi sitotoksisitas yang setara dengan cisplatin dikarenakan kesamaan kategori aktivitas sitotoksiknya  Selain itu, hasil penelitian ini juga memberikan petunjuk bahwa fraksi etil asetat diduga mengandung senyawa kimia yang bertanggung jawab atas aktivitas sitotoksik terhadap sel MCF-7.

Merujuk dari hasil studi aktivitas sitotoksik ekstrak dan fraksi daun Patindis pada penelitian ini, maka fraksi etil asetat memiliki potensi sebagai agen sitotoksik baru. Oleh karena itu, studi lebih lanjut sangat diperlukan untuk mengidentifikasi dan mengisolasi kandungan senyawa kimia yang bertanggung atas aktivitas sitotoksik terhadap sel MCF-7 di dalam fraksi etil asetat sehingga nantinya senyawa tersebut diharapkan dapat dikembangkan sebagai kandidat agen terapi kanker payudara baru.

## KESIMPULAN

Berdasarkan hasil pengkajian aktivitas sitotoksik terhadap sel kanker payudara MCF-7, fraksi etil asetat merupakan fraksi paling aktif dengan nilai $IC_{50}$ sebesar 87,340 µg/mL dan aktivitas sitotoksiknya termasuk dalam kategori sedang. Dengan demikian fraksi etil asetat

memiliki potensi untuk dikembangkan lebih lanjut menjadi kandidat agen terapi anti kanker payudara.

## UCAPAN TERIMAKASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Direktorat Penelitian dan Pengabdian Masyarakat Universitas Islam Indonesia atas hibah Penelitian Unggulan Berorientasi Luaran dengan nomor 03/Dir/DPPM/70/Pen.Unggulan/PII/XI/2019. Penulis juga menyampaikan ucapan terima kasih kepada dr. Ronny Lesmana, MKes., PhD., AIFO atas supervisinya serta Nurul dan Mia atas pendampingannya selama uji aktivitas sitotoksik di Laboratorium Sentral Universitas Padjadjaran. Ucapan terima kasih disampaikan pula oleh penulis kepada ibu Saton dari Desa Terantang, Sampit, Kalimantan Tengah yang telah membantu dalam pemetikan daun Patindis.

## DAFTAR PUSTAKA

AbuHammad, S. and Zihlif, M. 2013. Gene Expression Alterations in Doxorubicin Resistant MCF7 Breast Cancer Cell Line. *Genomics*. Vol. 101(4) : 213-220.

American Cancer Society. 2016. Chemotherapy for Cervical Cancer. https://www.cancer.org/cancer/cervical cancer/treating/chemotherapy.html (accessed on 1 June 2017)

Baldivia, D., Leite, D., Castro, D., Campos, J., Santos, U., Paredes-Gamero, E., Carollo, C., Silva, D., de Picoli Souza, K. and dos Santos, E. 2018. Evaluation of *In Vitro* Antioxidant and Anticancer Properties of the Aqueous Extract from the Stem Bark of *Stryphnodendron adstringens*. *International Journal of Molecular Sciences*. Vol. 19(8) : 2432.

Bray, F., Ferlay, J., Soerjomataram, I., Siegel, R. L., Torre, L. A. and Jemal, A. 2018. Global Cancer Statistics 2018: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*. Vol. 68(6): 394-424.

Csepregi, R., Lemli, B., Kunsági-Máté, S., Szente, L., Kőszegi, T., Németi, B. and Poór, M. 2018. Complex Formation of Resorufin and Resazurin with *B-Cyclodextrins*: Can Cyclodextrins Interfere with a Resazurin Cell Viability Assay? *Molecules*. Vol. 23(2) : 382.

Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. Hari Kanker Sedunia 2019. [Internet] 2019 [cited 10 November 2019]; Available from: https ://www.depkes.go.id/article/ view/19020100003/hari-kanker-sedunia-2019.html.

Laboratorium Sentral. 2019. *Laporan Hasil Uji Antioksidan DPPH*. Unpublished report.

Newman, D. J. and Cragg, G. M. 2016. Natural Products as Sources of New Drugs from 1981 to 2014. *Journal Natural Products*. Vol. 79(3) : 629-661.

Rachmawati, E., Karyono, S. dan Suyuti, H. 2012. Efek Ekstrak Etanolik Daun Sirsak pada Proliferasi dan Apoptosis Sel HeLa yang Dimediasi oleh p53. *Jurnal Kedokteran Brawijaya*. Vol. 27(1) : 28-33.

Saefudin, S. dan Basri, E. 2016. Potensi Antioksidan dan Sifat Sitotoksis Ekstrak Kulit Kayu Sembilan Jenis Tumbuhan dari Taman Nasional Lore Lindu. *Jurnal Penelitian Hasil Hutan*. Vol. 34(2) : 137-145.

Setiawati, A. 2014. Anticancer Activity of Mangosteen Pericarp Dry Extract Against MCF-7 Breast Cancer Cell Line Through Estrogen Receptor -α. *Indonesian Journal of Pharmacy*. Vol. 25(3) : 119-126.

World Health Organization. Cancer. [Internet] 2018 [updated 12 September 2018; cited 10 November 2019]; Available from: https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/cancer.

World Health Organization. 2019. Cytotoxicity: In Vitro Determination. Retrieved December 21, 2019 (https://www.who.int/tdr/grants/workplans/en/cytotoxicity_invitro.pdf).